



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO RETROSPETIVO DE PROTEINÚRIA CANINA QUANTIFICADA PELO RÁCIO  
PROTEÍNA-CREATININA URINÁRIO

Margarida Lemos Quintão Marques Paz

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor António José de Freitas Duarte

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutora Maria Teresa da Costa Mendes Vítor

Villa de Brito

ORIENTADOR

Doutor José Henrique Duarte Correia

CO-ORIENTADOR

Doutor Rodolfo Assis de Oliveira Leal

2019  
LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO RETROSPETIVO DE PROTEINÚRIA CANINA QUANTIFICADA PELO RÁCIO  
PROTEÍNA-CREATININA URINÁRIO

Margarida Lemos Quintão Marques Paz

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor António José de Freitas Duarte

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutora Maria Teresa da Costa Mendes Vítor

Villa de Brito

ORIENTADOR

Doutor José Henrique Duarte Correia

CO-ORIENTADOR

Doutor Rodolfo Assis de Oliveira Leal

2019  
LISBOA

---

## **Agradecimentos**

À minha família, por todo o amor, carinho, apoio e confiança nas minhas capacidades enquanto futura médica veterinária e por ser a melhor família que eu poderia escolher.

À minha querida mãe, que foi quem me incutiu desde sempre o gosto e respeito pelos animais e que foi sempre a minha maior apoiante quando tomei a decisão de ser veterinária. Apesar de já não estares fisicamente presente e de já não poderes ser a minha assistente (como tínhamos combinado) fazes parte do meu ser e dás-me força para conseguir ultrapassar as dificuldades.

À minha irmã Mariana e ao meu querido pai por me terem mostrado que com dedicação e trabalho o sucesso pode ser alcançável. E também ao meu pai por me ter proporcionado todas as condições para conseguir fazer este curso.

Ao meu irmão mais novo, Salinho (como eu gosto de o tratar) por todas as horas de desabafo que ele aturou ao longo destes anos, por me ajudar na minha nóbice informática e por me fazer querer ser melhor.

À FMV, por todo os ensinamentos que me transmitiu ao longo do curso.

Ao Professor José Henrique, por conseguir manter a calma desta aluna muito stressada, por toda a simpatia e boa disposição, por todos os conhecimentos que me transmitiu e por acreditar no meu tema e nas minhas capacidades enquanto orientanda.

Ao meu querido e melhor co-orientador, Dr. Rodolfo Leal, pela extraordinária competência que me fez aprender imenso, pela exigência que me fez ser cada vez melhor, pela paciência que demonstrou quando por vezes fazia perguntas mais descabidas e também pelos momentos de descontração, cantorias e risadas, que tornaram os dias de trabalho bem mais fáceis. Enfim, um muito obrigada por tudo e especialmente por me ter mostrado o tipo de médica veterinária que quero ser.

A todos os médicos, enfermeiros e auxiliares do Hospital Escolar da FMV, que estiveram sempre disponíveis para me ajudar, ensinar e “puxar por mim”, ao longo dos 6 meses de estágio e que sempre me trataram como uma colega.

Aos incansáveis funcionários da secretaria, que foram uma ajuda preciosa ao longo deste curso.

À Mari, Pipz, Izzy, Bá e Bea, por serem as melhores amigas que podia pedir, por quererem sempre o melhor para mim e pelo papel ativo que tiveram nas minhas crises relativamente à tese, como também aos meus queridos amigos, que sempre me apoiaram e acreditaram em mim.

À Puffa, a melhor das melhores, por me conhecer melhor do que ninguém, por ser a única que me consegue trazer à razão e manter a minha sanidade mental e por ter sido incansável durante todos estes anos.

Aos amigos que fiz na faculdade, por todos os bons e maus momentos passados, por terem aturado todas as minhas crises de ansiedade nas épocas de exame e por terem tornado este percurso mais fácil. E à turma F, pela longo caminho que fizemos para ultrapassar as dificuldades do 5º ano.

Obrigados aos estagiários que estiveram comigo no Hospital Escolar, por terem sido ótimos colegas de trabalho, sempre dispostos a ajudar e a partilhar conhecimentos como também pelos momentos de descontração e diversão.

E por fim a todos os gatos que tive ao longo da minha vida, em especial ao Nico e Óscar, que já não se encontram entre nós, e ao Kenny e ao Balu por serem os gatos mais fofos e lindos do mundo.

# ESTUDO RETROSPETIVO DE PROTEINÚRIA CANINA QUANTIFICADA PELO RÁCIO PROTEÍNA-CREATININA URINÁRIO

## Resumo

A proteinúria corresponde a uma quantidade detetável de proteínas na urina e pode surgir quando há inflamação do parênquima renal, quando as células glomerulares e/ou tubulares se encontram disfuncionais ou sobrecarregadas ou ainda em afeções génito-urinárias. No entanto, a proteinúria em cães está frequentemente associada a doenças glomerulares, sendo nestas doenças geralmente de maior magnitude. A proteinúria é atualmente quantificada pelo rácio proteína-creatinina urinário (RPCU), podendo ser classificada, de acordo com a sua origem, em pré-renal, renal ou pós-renal.

Este estudo retrospectivo pretendeu avaliar as principais causas de proteinúria em cães da região de Lisboa.

Foram selecionados todos os cães apresentados no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV) entre janeiro de 2017 e dezembro de 2018 identificados com proteinúria significativa (RPCU > 0,5) e com diagnóstico primário estabelecido, tendo sido posteriormente classificados segundo a origem da proteinúria.

Dos 106 cães selecionados, 54% eram fêmeas e 46% eram machos, com uma média de 9,5 anos de idade (0,83 - 16 anos). Destes, nenhum apresentou proteinúria pré-renal, 76% apresentaram proteinúria renal, 17% apresentaram proteinúria pós-renal e 7% tiveram uma origem mista (renal + pós-renal). Detalhando a proteinúria renal, 46% tiveram diagnóstico presuntivo de glomerulonefrite secundária a doenças transmitidas por vetores (VBD), dos quais 82% foram positivos na serologia para um único agente, enquanto 18% foram positivos para mais de um agente e a *Leishmania infantum* foi o agente mais frequente (90%); 27% apresentaram doença renal crónica (DRC); 26% apresentaram doenças sistémicas que possivelmente induziram um comprometimento da permeabilidade seletiva glomerular e 1% apresentou insuficiência renal aguda (IRA). A proteinúria pós-renal incluiu animais com piómetra e infeção do trato urinário (ITU). A proteinúria mista foi considerada em cães com doenças sistémicas (VBD, DRC, IRA e hiperadrenocorticism) e uma ITU e/ou cistite concomitante.

Enquanto a proteinúria pré-renal significativa foi rara, as VBD foram a principal causa de proteinúria renal nestes cães, sendo a leishmaniose a mais frequente.

**Palavras-chave:** Cães; origem; proteinúria; rácio proteína-creatinina urinário.

# RETROSPECTIVE STUDY OF CANINE PROTEINURIA QUANTIFIED BY THE PROTEIN-CREATININ URINARY RATIO

## Abstract

Proteinuria corresponds to a detectable amount of protein in the urine and can arise when there is inflammation of the renal parenchyma, when the glomerular and/or tubular cells are dysfunctional or overloaded or even in urinary or genital affections. However, proteinuria in dogs is often associated with glomerular diseases, being in these diseases generally of greater magnitude. Proteinuria is currently quantified by the urinary protein-creatinine ratio (RPCU) and can be classified according to its origin in pre-renal, renal or post-renal.

The aim of this study was to assess the main causes of proteinuria in dogs from the region of Lisbon.

All dogs presented to the Veterinary Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine of Lisbon (HEV-FMV) between January 2017 and December 2018 identified with significant proteinuria (UPC ratio > 0.5) and with an established primary diagnosis were selected and subsequently classified according to proteinuria origin.

From the 106 dogs selected, 54% were females and 46% were males, with an average of 9.5 years old (range between 0.83 and 16 years old). From these, none had pre-renal proteinuria, 76% had renal proteinuria, 17% had post-renal proteinuria and 7% had a suspected mixed origin (renal+post-renal). Detailing renal proteinuria, 46% had a presumptive diagnosis of glomerulonephritis secondary to vector-borne diseases (VBD), of which 82% were positive on serology for a single-agent while 18% were positive for more than one agent and *Leishmania infantum* was the most frequent agent (90%); 27% showed chronic kidney disease; 26% had systemic diseases possibly inducing an impaired glomerular permselectivity (bronchopneumonia, enteropathies, liver disease, hyperadrenocorticism, diabetes mellitus or neoplasia) and 1% had acute kidney injury (AKI). Post-renal proteinuria included dogs with pyometra and urinary tract infection (UTI). Mixed proteinuria was considered in dogs with systemic diseases (VBD, CKD, AKI and hyperadrenocorticism) and a concurrent UTI and/or cystitis.

Whilst pre-renal significant proteinuria was uncommon, VBD were the main cause of renal proteinuria in these dogs and Leishmaniosis was the most frequent.

**Key words:** Dogs; origin; proteinuria; protein-creatinine urinary ratio.

## Índice geral

Agradecimentos .....	i
Resumo.....	iii
Abstract .....	iv
Índice geral .....	v
Índice de gráficos .....	vi
Índice de figuras .....	vii
Índice de imagens.....	vii
Índice de tabelas .....	vii
I. DESCRIÇÃO DE ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR .....	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
1. Introdução .....	5
2. Fisiopatologia da proteinúria .....	7
2.1. Afeções renais .....	10
2.1.1. Doenças glomerulares.....	10
2.1.1.1. Glomerulonefrites .....	11
2.1.1.2. Amiloidose renal .....	13
2.1.1.3. Glomeruloesclerose .....	14
2.1.1.4. Doença de lesão mínima .....	15
2.1.2. Tubulopatias.....	16
2.1.3. Doença Renal Crónica (DRC) .....	17
2.2. Doenças endócrinas .....	18
2.2.1. Hiperadrenocorticism (Síndrome de <i>Cushing</i> )/ Hiper cortisolismo.....	18
2.2.2. Diabetes <i>mellitus</i> .....	21
2.3. Doenças mieloproliferativas.....	22
3. Classificação da proteinúria .....	24
4. Avaliação clínica da proteinúria .....	28
4.1. Urina tipo II.....	28
4.1.1. Revisão dos parâmetros analisados na Urina tipo II .....	28
4.1.2. Tiras reativas de urina para deteção de proteinúria.....	34
4.2. Rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU).....	36
4.3. Decisão diagnóstica da proteinúria .....	40
III. ESTUDO RETROSPETIVO DE PROTEINÚRIA CANINA QUANTIFICADA PELO RÁCIO PROTEÍNA-CREATININA URINÁRIO .....	43
1. Introdução .....	43
2. Materiais e Métodos .....	43
2.1. Amostra populacional .....	43



2.2. Método de colheita de urina .....	44
2.3. Parâmetros analisados na Urina tipo II .....	44
2.4. Metodologia RPCU.....	45
2.5. Meios complementares de diagnóstico utilizados para deteção das VBD.....	45
2.6. Análise estatística .....	46
3. Resultados .....	46
3.1. Caracterização da amostra populacional .....	46
3.2. Método de colheita de urina .....	47
3.3. Urina tipo II.....	47
3.4. Classificação da proteinúria.....	48
3.5. Agentes detetados por serologia.....	48
3.6. Valores dos parâmetros estatísticos do RPCU na proteinúria de origem pré-renal, renal e pós-renal e por faixa etária .....	49
3.7. Avaliação da decisão diagnóstica da proteinúria através da análise de urina tipo II (USG e proteinúria) e RPCU .....	51
4. Discussão dos resultados.....	51
5. Conclusão .....	56
IV. BIBLIOGRAFIA .....	57
V. ANEXOS .....	63
Anexo 1- Comprovativo de aceitação de um trabalho em formato de painel, no seguimento do trabalho desenvolvido nesta dissertação de mestrado. ....	63
Anexo 2- Trabalho em formato de painel, a apresentar no Congresso do Colégio Europeu de Medicina Interna Veterinária- animais de companhia (ECVIM-CA), a realizar entre os dias 21 e 23 de setembro de 2019. ....	63

## Índice de gráficos

<b>Gráfico 1</b> - Distribuição do Género na Amostra Total.....	46
<b>Gráfico 2</b> - Distribuição do sedimento urinário ativo e inativo/cilindrúria/cristalúria na amostra total.....	47
<b>Gráfico 3</b> - Distribuição do método de colheita na amostra total.....	47
<b>Gráfico 4</b> - Análise estatística do rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU) relativamente à origem da proteinúria.....	50
<b>Gráfico 5</b> - Análise estatística do rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU) por faixa etária.....	51

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> - Ilustração esquemática dos nefrônios justamedulares e superficiais e funções dos segmentos do nefrônio e do ducto coletor (Verlander, 2013).....	7
<b>Figura 2</b> - Ilustração esquemática dos processos de transporte na célula epitelial do túbulo proximal (Verlander, 2013).....	9
<b>Figura 3</b> - Fluxograma para o diagnóstico de proteinúria no cão. NP: não proteinúria; BP: proteinúria borderline; P: proteinúria; USG: densidade urinária; RPCU: rácio de proteína-creatinina urinário (Elliott, Grauer & Roura, 2017).....	42
<b>Figura 4</b> - Fluxograma para apresentação dos resultados. PR: proteinúria pré-renal; R: proteinúria renal; POSR: proteinúria pós-renal; GN a VBD: glomerulonefrite secundária a doenças transmitidas por vetores; DRC: doença renal crónica; DS>PSG: doenças sistêmicas que podem induzir um comprometimento da permeabilidade seletiva glomerular; IRA: insuficiência renal aguda; ITU: infeção do trato urinário.....	49

## Índice de imagens

<b>Imagem 1</b> - Pipetagem e centrifugação da amostra.....	45
<b>Imagem 2</b> - Reagente PRM e máquina Daytona (medição RPCU).....	45
<b>Imagem 3</b> - Teste SNAP-4DX Plus.....	45

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1</b> - Estadiamento e sub-estadiamento da DRC canina, segundo a IRIS (IDEXX, 2017).....	18
<b>Tabela 2</b> - Classificação da proteinúria em fisiológica e patológica e suas causas. ICC: Insuficiência cardíaca congestiva; ITU: Inflamação do trato urinário; TG: Trato genital (Grauer, 2011).....	24
<b>Tabela 3</b> - Afeções e/ou doenças associadas à proteinúria pré-renal (Adaptado de Burton, 2017; Elliott, Grauer & Roura, 2017; Harley & Langston, 2012).....	25
<b>Tabela 4</b> - Afeções e/ou doenças associadas à proteinúria renal. LES: Lúpus eritematoso sistémico; IBD: Doença inflamatória intestinal (Adaptado de Elliott, Grauer & Roura, 2017; Harley & Langston, 2012).....	26
<b>Tabela 5</b> - Classificação da densidade urinária (USG) e seu significado clínico no cão (Alleman & Wamsley, 2017).....	30
<b>Tabela 6</b> - Correlação entre a densidade urinária e a localização anatômica e causas da azotémia no cão (Alleman & Wamsley, 2017).....	31
<b>Tabela 7</b> - Interpretação do rácio proteína-creatinina urinário (RPCU) canino com base nas recomendações da Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) (Elliott, Grauer & Roura, 2017).....	37

<b>Tabela 8</b> - Análise estatística da idade na Amostra Total.....	46
<b>Tabela 9</b> - Valores dos parâmetros estatísticos do rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU) relativamente à origem da proteinúria (renal, pós-renal e mista).....	50
<b>Tabela 10</b> - Valores dos parâmetros estatísticos do rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU) por faixa etária.....	50

## **Lista de abreviaturas**

**ADH-** Hormona anti-diurética

**AGEs-** Advanced Glycated End-Products- produtos de glicação avançada

**BJ-** *Bence Jones*

**CBB-** Azul brilhante de *Coomassie*

**CysC-** Cistatina C

**DM-** Diabetes *mellitus*

**DRC-** Doença renal crónica

**ECA-** Enzima conversora da angiotensina II

**ELISA-** *Enzyme-linked immunosorbent assay*

**FF-** Fração de filtração

**FPR-** Fluxo plasmático renal

**GEFS-** Glomerulosclerose focal segmentar

**GN-** Glomerulonefrite

**HAC-** Hiperadrenocorticism

**HEV-FMV-** Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

**HP-** Polipropileno homopolímero

**hpf-** campo de maior ampliação

**ITU-** Infecção do trato urinário

**Ig-** Imunoglobulina

**LES-** Lúpus eritematoso sistémico

**MCD-** *Minimal Change Disease*- Doença de lesão mínima

**MGB-** Membrana glomerular basal

**MM-** Mieloma múltiplo

**Na<sup>+</sup>**- Ião sódio

**NaCl-** Cloreto de sódio

**ND-** Nefropatia diabética

**PAS-** Pressão arterial sistêmica

**PC-** Copolímero de propileno

**PCR-** *Polymerase chain reaction*- Reação em cadeia da polimerase

**PG-** Prostaglandina

**PH-** Pressão hidrostática

**PO-** Pressão oncótica

**PRM-** Molibdato vermelho de pirogalhol

**SSA-** Ácido sulfosalicílico

**TCP-** Túbulo contornado proximal

**TEM-** *Transmission electron microscopy*- Microscopia eletrônica de transmissão

**TFG-** Taxa de filtração glomerular

**UIDI-** Unidade de Isolamento para Doenças Infeto-Contagiosas

**USG-** *Urinary specific gravity*- Densidade urinária

**VBD-** *Vector-borne diseases* - Doenças transmitidas por vetores

## I. DESCRIÇÃO DE ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular da aluna teve lugar no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV) entre 19 de setembro de 2018 a 19 de março de 2019 (6 meses). A distribuição dos estagiários pelos vários serviços (Medicina Geral, Oftalmologia, Dermatologia, Oncologia, Medicina Interna, Cirurgia, Unidade de Isolamento para Doenças Infeto-Contagiosas Ecografia e Radiologia) foi baseada num horário formulado pelo coordenador de estágios curriculares do HEV-FMV, Dr. Gonçalo Vicente, correspondendo de uma forma geral a 8 horas diárias, (excluindo fins de semana), turnos de internamento diurno e noturno (12 horas), bem como turnos ocasionais ao fim de semana. No total, foram concretizadas cerca de 1110 horas de estágio.

**Medicina Geral:** O estágio iniciou-se no serviço de Medicina Geral, tendo a estudante feito cerca de 296 horas (incluindo as horas de internamento diurno e noturno). Neste serviço, o dia-a-dia consistiu no seguimento das consultas realizadas pelos médicos veterinários assistentes e no auxílio dos enfermeiros/auxiliares veterinários em vários procedimentos, tais como avaliação pós-cirúrgica, realização de pensos, administração de medicações, limpeza e desinfeção de feridas, medição da pressão arterial sistémica (PAS), medição da glicémia, colheita de sangue e contenção dos animais. No âmbito das consultas, a aluna assistiu a primeiras consultas, consultas de rotina, de primeira opinião e de seguimento que abrangeram: *check-up* geriátrico, vacinação, desparasitação, afeções do foro gastrointestinal, renal, oncológico, cardiovascular, endócrino, respiratório, músculo-esquelético, neurológico, entre outros. Posteriormente, quando a estagiária já estava familiarizada com o funcionamento do hospital e com algumas das técnicas foi-lhe dada a oportunidade de iniciar as consultas, fazer a anamnese e o exame físico, bem como colher sangue ou colocar cateteres endovenosos (caso o animal ficasse internado) ou ainda punções aspirativas com agulha fina, escrever receitas, sempre com a supervisão do médico ou enfermeiro veterinário responsável, e ainda discutir os casos clínicos (anamnese, diagnósticos diferenciais, meios complementares de diagnóstico e tratamento). Deste modo, a aluna desenvolveu uma boa capacidade de comunicação tanto com os tutores como com colegas, treinou a técnica de colheita de sangue, aprendeu e/ou apurou conhecimentos clínicos, que por sua vez levaram ao desenvolvimento de um raciocínio clínico e a um aumento da confiança enquanto futura médica veterinária. Já no Internamento geral, era sempre feita a monitorização dos pacientes (duas vezes/turno), preparação de medicações e sua administração. Além disto, a aluna assistiu e auxiliou na colocação de cateteres endovenosos, preparação de sistemas de fluidoterapia, medicações de urgência, algalias, entubação endotraqueal, drenagem pleural e/ou abdominal, ressuscitação cardiopulmonar, entre outros.

**Unidade de Isolamento para Doenças Infeto-Contagiosas (UIDI):** Foram concretizadas cerca de 32 horas na UIDI, que consiste num internamento isolado (separado do internamento geral) destinado aos animais que possam transmitir doenças infectocontagiosas, supervisionada pela Professora Solange Gil e pela Doutora Inês Machado. Aqui, a aluna consolidou conhecimentos relativamente aos procedimentos higiene e segurança exigidos numa unidade de isolamento e com os equipamentos de proteção individual (EPI), como também efetuou procedimentos médicos tais como aqueles realizados na medicina geral e internamento geral.

**Oftalmologia:** No total foram realizadas 64 horas em consultas e cirurgias conduzidas pela Professora Esmeralda Delgado. No contexto clínico a aluna consolidou conhecimentos acerca do exame oftálmico de rotina, de como testar os reflexos dos pares craneanos, o teste de *Schirmer*, medição da pressão intraocular, oftalmoscopia directa e indirecta, o teste de fluoresceína, electrorretinografias, bem como discussão de alguns diagnósticos diferenciais e tratamentos. A estudante também teve a possibilidade de assistir a algumas cirurgias como realização de um enxerto conjuntival para correção de úlcera complicada ou cirurgia às cataratas e de acompanhar os animais no pós-cirúrgico.

**Oncologia:** Este serviço é coordenado pelo Dr. Gonçalo Vicente, havendo 2 dias por semana reservados para as sessões de quimioterapia. Nos restantes dias, a aluna acompanhou o Dr. Gonçalo Vicente nas suas consultas, sendo muitas delas no âmbito da oncologia. Assim sendo, nas 2 semanas em que tinha sido escalada para a Oncologia a estudante contabilizou 48 horas, tendo sido as restantes 32 horas consideradas como Medicina Geral. Os dias de quimioterapia começavam pela receção dos pacientes, realização de exame físico, cateterização endovenosa e colheita de sangue para análises pré-sessão de quimioterapia e sua interpretação. Consoante os resultados, decidia-se se o animal estava apto para a sessão de quimioterapia, procedia-se a cálculos para determinação da dose de quimioterápicos a administrar e preparavam-se os mesmos em local apropriado. A aluna, além de aprender normas de segurança na preparação e administração de quimioterápicos, quais os parâmetros que são essenciais avaliar antes da quimioterapia e abordagens terapêuticas, também desempenhou funções semelhantes à Medicina Geral.

**Medicina Interna:** Tendo em conta que o Doutor Rodolfo Leal foi o co-orientador da estudante, esta fez aproximadamente 320 horas no serviço de Medicina Interna. Durante os dois meses a aluna assistiu e/ou participou nas passagens de casos, bem como assistiu a consultas que abrangeram as áreas de gastroenterologia, endocrinologia, imunologia, bem como os aparelhos respiratório e urinário e doenças infecciosas. Nas consultas foram

realizadas anamneses minuciosas, diversas técnicas, como colheita de sangue e de urina por cistocentese ecoguiada, medição da PAS, medição da glicémia e palpação retal, bem como foram discutidos sinais clínicos, diagnósticos diferenciais, meios complementares de diagnóstico, opções de tratamento e por vezes até um pouco de fisiopatologia. A aluna ainda teve a oportunidade de assistir e ajudar na monitorização anestésica e realização de endoscopias (broncoscopia, endoscopia gástrica e colonoscopia).

**Dermatologia:** Foram feitas cerca de 90 horas no serviço de Dermatologia, sob a orientação do Dr. Hugo Pereira e da Professora Mafalda Lourenço. Nas consultas fazia-se sempre uma anamnese, mais específica para afeções cutâneas, utilizaram-se meios de diagnóstico específicos como citologias cutâneas e auriculares, raspagens cutâneas, biópsias de pele, otoscopias e videotoscopias, lâmpada de Wood, entre outros. Também foram discutidos diagnósticos diferenciais e abordagens terapêuticas.

**Cirurgia:** No serviço de Cirurgia foram realizadas 140 horas, sem contar com as 12 horas, aproximadamente, despendidas em cirurgias de emergência (por exemplo torção gástrica) ao longo do estágio. Neste serviço foram efetuadas cirurgias de ortopedia, tecidos moles, pequenas cirurgias, estomatologia, maxilo-faciais, como também biópsias, entre outras. Um dia em cirurgia começava, normalmente, pela receção dos pacientes (onde a aluna tinha uma pequena conversa com os donos para averiguar se o jejum tinha sido cumprido, qual a medicação em curso, entre outras coisas), seguida da preparação pré-cirúrgica (cateterização endovenosa, fluidoterapia e pré-medicação anestésica). Posteriormente procedia-se à indução anestésica fixa do animal, intubação endotraqueal com manutenção anestésica volátil e ainda tricotomia, lavagem e desinfeção das zonas que iriam ser intervencionadas. Durante as cirurgias a aluna desempenhou inúmeras funções: (1) circulante; (2) ajudante de cirurgiã, onde a estudante ia auxiliando o cirurgião a desbridar, a limpar o campo cirúrgico, suturar e fazer pensos, como também adquiriu conhecimentos sobre as técnicas cirúrgicas utilizadas; (3) anestesista, procedendo à monitorização, manutenção e regulação anestésica do animal. No pós-cirúrgico administravam-se os fármacos necessários consoante o caso e posterior extubação do animal. Por fim faziam-se as notas de altas, ligava-se aos tutores para lhes dar informações acerca da cirurgia e a combinar a hora da alta e, em alguns casos a aluna assistiu a consultas de seguimento pós-cirúrgico.

**Radiologia:** Este serviço é composto pela Radiografia e pela Tomografia Axial Computarizada (TAC), tendo sido feitas cerca de 40 horas no total. A aluna assistiu a inúmeras radiografias, onde ajudou na contenção e posicionamento do animal e na anestesia, quando necessária, bem como apurou e desenvolveu conhecimentos na interpretação das mesmas.



Durante a sua permanência neste serviço a aluna não teve a oportunidade de assistir a nenhuma TAC, contudo ao longo do estágio teve a possibilidade de ver algumas.

**Ecografia:** No total foram realizadas cerca de 80 horas. No serviço de ecografia a aluna assistiu a ecografias abdominais, cardíacas e testiculares, como também a diversas técnicas ecoguiadas, nomeadamente cistocentese, abdominocentese, toracocentese, pericardiocentese, punções aspirativas com agulha fina e biópsias.

Neste serviço também foram discutidos diagnósticos diferenciais no âmbito da ecografia, meios complementares de diagnóstico e tratamentos.

Após o término do estágio, a aluna teve um bom *feedback* do seu co-orientador, bem como do resto da equipa do hospital de uma forma geral, tendo trabalhado sempre com empenho, boa disposição, humildade e vontade de aprender.

Em anexo, encontra-se o comprovativo de aceitação do presente trabalho (anexo 1) em forma de painel, mas cujo foco são apenas as doenças transmitidas por vetores (VBD), bem como a versão A4 do poster (anexo 2), que foi apresentado no Congresso do Colégio Europeu de Medicina Interna Veterinária- animais de companhia (ECVIM-CA), entre os dias 21 e 23 de setembro de 2019.

## II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1. Introdução

A proteinúria corresponde à presença de proteínas na urina, que em condições normais seriam mantidas nos capilares glomerulares durante a filtração glomerular ou seriam reabsorvidas ou metabolizadas pelas células epiteliais tubulares (em menor escala) (Harley & Langston, 2012; Verlander, 2013). A proteinúria pode então surgir quando as células glomerulares e/ou tubulares se encontram disfuncionais ou sobrecarregadas ou quando há inflamação do parênquima renal, como também quando há um maior número de proteínas plasmáticas em circulação ou aquando de afeções gêrito-urinárias, em que as proteínas são acrescentadas no trato urinário distal (Elliott, Grauer & Roura, 2017; Graham, 2017; Grauer, 2011; Harley & Langston, 2012). Deste modo, a presença de uma proteinúria persistente com sedimento inativo na urina (ausência de doença do trato urinário distal ou do reprodutor) é um indicador de lesão ou disfunção renal e menos comumente de um aumento da concentração de proteínas de baixo peso molecular no sangue (Elliott *et.al.*, 2017; Harley & Langston, 2012).

Tendo em conta que alterações na permeabilidade glomerular estão associadas a uma proteinúria de maior grau e que as doenças glomerulares são a principal causa de doença renal no cão, pode-se concluir que a proteinúria é muitas vezes de origem glomerular nos cães (Elliott *et.al.*, 2017; Harley & Langston, 2012; Vaden, 2017). As doenças glomerulares podem ser hereditárias ou adquiridas. Estas últimas são normalmente secundárias a doenças inflamatórias e a neoplasias. Aquelas com maior prevalência no cão são a glomerulonefrite (GN) imunomediada, a amiloidose glomerular e a glomeruloesclerose (Vaden, 2017). A proteinúria também tem sido descrita no hiperadrenocorticism (HAC) e na diabetes *mellitus* (DM), mas a fisiopatologia da mesma nestas doenças ainda não está completamente esclarecida (Marynissen *et al.*, 2016b; Smets *et.al.*, 2011). Por outro lado, já há algum tempo que a proteinúria é considerada como um marcador de doença renal crónica (DRC) em cães, podendo mesmo ocorrer antes do aparecimento da azotémia e a sua importância no prognóstico, evolução e tratamento, bem como as suas consequências fisiopatológicas têm vindo a ser cada vez mais reconhecidas (Elliott *et.al.*, 2017).

A proteinúria é atualmente quantificada pelo rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU), que se obtém pela divisão da concentração de proteína na urina (mg/dL) pela concentração de creatinina na urina (mg/dL) (Elliott *et al.*, 2017). Na interpretação do RPCU devem ser tidos em conta os vários fatores que o podem influenciar, tais como presença de um sedimento ativo, a densidade urinária (USG), o local e método da colheita de urina, as condições de armazenamento das amostras, variabilidade interlaboratorial, várias medições *versus* uma só medição, presença de sangue na amostra, contaminações cruzadas que podem ocorrer no processamento das amostras, entre outros (Bagley *et al.*, 1991; Duffy, Specht & Hill, 2015;

Elliott *et.al.*, 2017; Marynissen *et al.*, 2016a; Moyle, Specht & Hill, 2018; Rossi *et al.*, 2010, 2015; Vaden, Pressler, Lappin & Jensen, 2004).

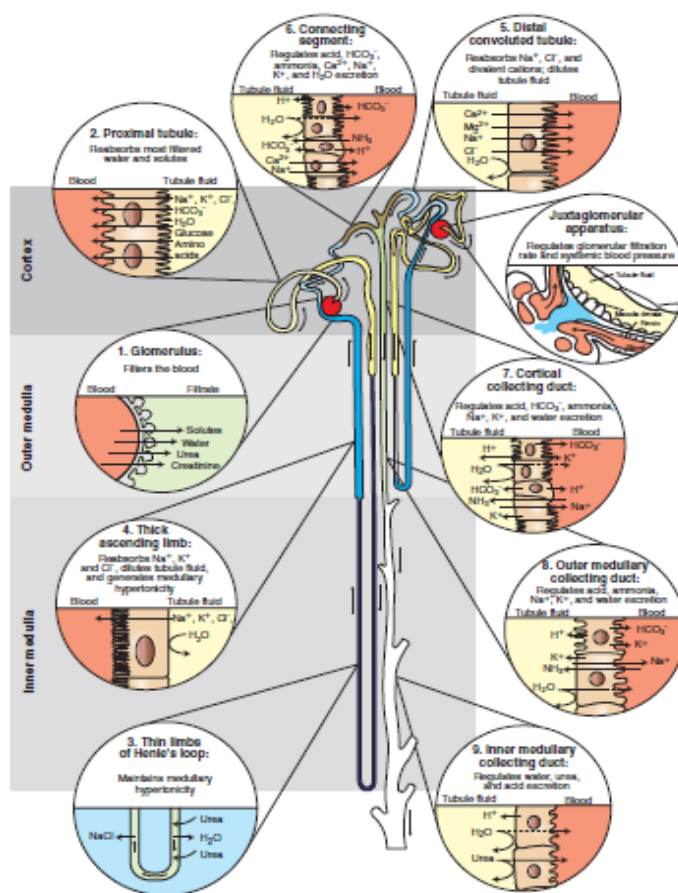
Num estudo realizado em cães geriátricos aparentemente saudáveis, 14% tinham proteinúria *borderline* e 11% tinham proteinúria significativa, resultados que evidenciam a importância da quantificação da proteinúria através do RPCU na abordagem ao animal geriátrico (Marynissen *et al.*, 2016a).

Por fim, como muitos animais com doença renal podem ser assintomáticos, se um teste de triagem, como as tiras de urina, *dipstick* (são as mais comumente utilizadas) for positivo para proteinúria é importante quantificá-la e determinar a sua origem (Elliott *et al.*, 2017; Vaden, 2017).

## 2. Fisiopatologia da proteinúria

A filtração glomerular corresponde ao processo em que componentes celulares e proteínas de médio a alto peso molecular ficam retidos dentro dos capilares glomerulares, dando origem ao filtrado glomerular (água e solutos). A formação deste filtrado depende da taxa de filtração glomerular (TFG) (Verlander, 2013). Assim, a parede capilar glomerular corresponde a uma barreira anatômica que constitui o mecanismo primário pelo qual a proteinúria é evitada (Harley & Langston, 2012).

**Figura 1:** Ilustração esquemática dos nefrônios justamedulares e superficiais e funções dos segmentos do nefrônio e do ducto coletor. Segundo Verlander (2013).



A TFG é influenciada pelas forças favoráveis (pressão hidrostática (PH) sanguínea no capilar glomerular e a pressão oncótica (PO) do ultrafiltrado) e opostas (PH do ultrafiltrado e a PO capilar) à filtração; pela permeabilidade da barreira de filtração (que depende do tamanho, da carga elétrica, forma e deformabilidade das moléculas); pela área disponível para a filtração e por fatores intrínsecos (auto-regulação) e sistêmicos (humorais), que contrariam as oscilações da pressão sanguínea sistêmica e do fluxo sanguíneo renal (Reece & Rowe, 2018; Verlander, 2013). Os fatores intrínsecos incluem:

- o reflexo miogénico, que regula a perfusão glomerular e a TFG ao controlar a resistência ao fluxo das arteríolas aferentes e eferentes;
- o *feedback* tubuloglomerular, desencadeado por um aumento do fluxo do fluído tubular e da concentração de cloreto de sódio (NaCl), identificados ao nível da mácula densa, que resulta na redução da TFG para níveis fisiológicos;
- o endotélio, que produz vasodilatadores, como o monóxido de azoto, prostaglandina (PG) E2 e a PGI2 (prostaciclina);
- substâncias vasoconstritoras, entre elas, a endotelina, tromboxano A2 e angiotensina II (Reece & Rowe, 2018; Verlander, 2013).

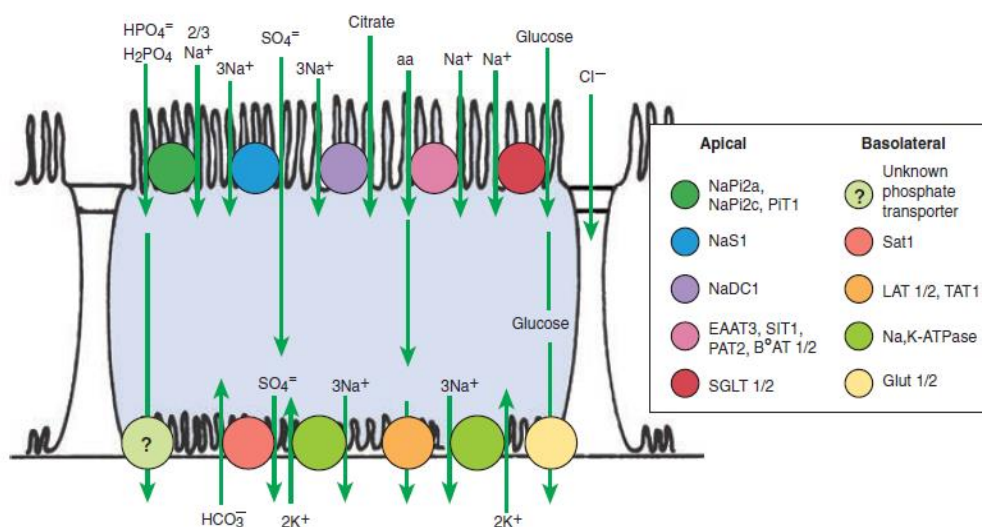
Já os fatores sistémicos incluem:

- a angiotensina II, aldosterona e hormona antidiurética (ADH), que aumentam a reabsorção de água e solutos pelo rim, aumentando o volume sanguíneo;
- o péptido natriurético atrial, sintetizado nos átrios cardíacos, que provoca natriurese;
- as catecolaminas, que, tal como a ADH e angiotensina II, podem causar vasoconstrição sistémica e, consequentemente, aumentar a pressão arterial sistémica (PAS), como também podem levar à contração das células mesangiais dentro do glomérulo, reduzindo a área disponível para filtração e, consequentemente, a TFG (Verlander, 2013).

Deste modo, quando há desregulação destes fatores hemodinâmicos, a pressão capilar glomerular eleva-se (hipertensão glomerular) e, consequentemente, há um aumento da TFG que faz alargar os raios dos poros dentro da barreira de filtração, o que proporciona a ultrafiltração de proteínas (Harley & Langston, 2012).

Por outro lado, a reabsorção tubular permite a recuperação de vários constituintes do ultrafiltrado, sendo nesta fase que 100% da glucose e cerca de 99% da água e sódio (Na) filtrados são reabsorvidos, de forma a haver manutenção da homeostasia (Verlander, 2013). Os péptidos e proteínas de baixo peso molecular, como a insulina, glucagina e paratormona, que passam através de um glomérulo saudável para o filtrado glomerular são captados pelo túbulo contornado proximal (TCP) por endocitose, sendo subsequentemente reabsorvidos ou submetidos à metabolização lisossomal (Harley & Langston, 2012; Verlander, 2013). Este processo é mediado por recetores, pelo que quando todos os recetores estão a ser utilizados (túbulos a funcionar na capacidade máxima) chega-se a um ponto de saturação e as restantes proteínas presentes no filtrado passam para a urina (Harley & Langston, 2012).

**Figura 2:** Ilustração esquemática dos processos de transporte na célula epitelial do túbulo proximal. Segundo Verlander (2013).



A proteinúria também pode estar associada a hipoproteinémia e/ou hipoalbuminémia, hipercoagulabilidade/eventos tromboembólicos (perda de antitrombina III), diminuição da pressão oncótica plasmática (edema e/ou derrames), hipertensão sistêmica, síndrome nefrótica, presença de imunocomplexos, perda de massa muscular, perda de peso, hipercolesterolemia e hiperlipidemia, em alguns casos (Breshears & Confer, 2017; Elliott *et.al.*, 2017; Harley & Langston, 2012).

A proteinúria pode assim surgir em inúmeras afeções, nomeadamente quando há inflamação do tecido renal parenquimatoso (pielonefrite, leptospirose, neoplasia renal, necrose tubular aguda e nefrólitos), que é frequentemente acompanhada por um sedimento urinário ativo e alterações ecográficas do rim, e/ou quando a função renal se encontra alterada (ao nível glomerular e/ou tubular), mas também pode estar associada a um aumento na concentração plasmática de proteínas e a processos patológicos que atingem o trato urinário e o trato genital, onde a proteína é adicionada à urina no ureter, bexiga ou uretra (Elliott *et.al.*, 2017; Graham, 2017; Grauer, 2011; Harley & Langston, 2012). Assim, a proteinúria surge quando os mecanismos renais de retenção de proteínas estão alterados ou sobrecarregados, sendo as alterações na permeabilidade glomerular aquelas que levam a concentrações maiores de proteína na urina (Harley & Langston, 2012).

## **2.1. Afeções renais**

### **2.1.1. Doenças glomerulares**

As doenças glomerulares são uma das principais causas de doença renal no cão e estão associadas a alterações da barreira de filtração glomerular, que levam, consequentemente, a uma perturbação do processo de filtração (Elliott *et.al.*, 2017; Harley & Langston, 2012; Vaden, 2017). Assim, tendo em conta que a parede capilar glomerular corresponde ao mecanismo primário pelo qual a perda de proteínas pela urina é evitada, a proteinúria ocorre frequentemente nestas doenças e, valores muito elevados da mesma (RPCU > 10) podem estar associados ao síndrome nefrótico (Elliott *et.al.*, 2017; Harley & Langston, 2012). Deste modo, a proteinúria é considerada um marcador de doença glomerular e quanto maior for o seu grau, maior a probabilidade de o animal ter doença glomerular, já que alterações na permeabilidade glomerular resultam em concentrações mais elevadas de proteínas na urina (Harley & Langston, 2012; Vaden, 2017). No entanto, já foram descritas lesões glomerulares em cães sem proteinúria (Vaden, 2017).

Sabe-se que a magnitude da proteinúria nas doenças glomerulares hereditárias / primárias é tendencialmente maior (UPC > 2 e frequentemente superior a 5–10), quando comparada com outras causas de proteinúria renal e que estas doenças podem resultar de alterações na membrana glomerular basal (MGB), já relatadas em várias raças de cão, mas não no gato; alterações nos podócitos; deposição de substâncias estranhas no glomérulo (substância amilóide, colagénio III, imunocomplexos); entre outras (Littman, 2017). Por outro lado, também existem nefropatias hereditárias, que tal como outras doenças glomerulares estruturais podem levar a proteinúria (normalmente de baixo grau), e afetam todo o nefrónio, tais como: agénese renal, doença renal juvenil (displasia renal), rim poliquístico, entre outras (Elliott *et.al.*, 2017; Littman, 2017). Contudo, as doenças glomerulares surgem, na maior parte das vezes, secundariamente a doenças inflamatórias infecciosas e não infecciosas (mais frequentes em animais jovens e de meia-idade) e a neoplasias (mais comuns em animais mais velhos) (Vaden, 2017). Dentro das doenças glomerulares, a glomerulonefrite (GN) imunomediada (secundária à deposição de imunocomplexos), a amiloidose glomerular e a glomeruloesclerose são consideradas as mais frequentes no cão, sendo que, segundo um estudo recente, abrangem aproximadamente 84% das lesões identificadas em cães com doença glomerular (Vaden, 2017). Já a lesão renal aguda não é uma apresentação comum em animais com doença glomerular, mas ocorre ocasionalmente (Vaden, 2017).

Muitos animais com doença glomerular são assintomáticos e a proteinúria é detetada durante exames de rotina (Vaden, 2017). Alternativamente, os animais podem exibir sinais clínicos como letargia, anorexia, perda de peso, vômito, diarreia, poliúria (PU)/polidipsia (PD), anemia, bem como sinais clínicos variados resultantes de lesões hipertensivas no sistema nervoso

central, olhos ou coração ou até mesmo dilatação abdominal consistente com ascite ou edema periférico, em casos graves de proteinúria, entre outros (Littman, 2017; Vaden, 2017). A isostenúria é um sinal laboratorial tardio de doença glomerular primária, pois só se verifica quando já há doença tubular secundária, uma vez que as células tubulares vão sendo danificadas ao tentarem reabsorver as proteínas presentes no filtrado glomerular (Littman, 2017).

Também é relevante referir que à medida que a doença glomerular vai progredindo, para além de lesões tubulointersticiais, podem surgir azotémia e DRC (Estádios IRIS 2-4) (Elliott *et.al.*, 2017).

#### **2.1.1.1. Glomerulonefrites**

Tendo em conta que é ao nível dos glomérulos que se dá a maior parte da remoção de macromoléculas, principalmente de imunocomplexos, da circulação (mesmo quando em pequenas quantidades e não patogénicos), a GN imunomediada é a doença glomerular mais comum em cães, correspondendo, de acordo com Breshears & Confer (2017), a 48% das doenças glomerulares. Esta resulta na maioria das vezes da deposição de complexos imunes solúveis dentro dos glomérulos (mais frequente), que correspondem a complexos antigénio-anticorpo ou da formação de anticorpos contra antígenos da MGB (Breshears & Confer, 2017). A GN imunomediada pode ser uma doença glomerular primária idiopática, contudo surge maioritariamente em associação com infeções persistentes ou outras doenças que têm uma antigenémia prolongada, que predispõem à formação de complexos imunes solúveis, estando normalmente associada, quando secundária, a uma proteinúria de baixo grau ( $0,5 < \text{UPC} < 1,0$ ) (Breshears & Confer, 2017; Elliot *et al.*, 2017). Deste modo, esta doença pode estar associada a infeções virais crónicas específicas, como a hepatite infecciosa canina (adenovírus canino tipo 1); infeções bacterianas crónicas, como anaplasmose, ehrlichiose, rickettsiose, borreliose (Doença de *Lyme*), transmitidas por carrapatos, brucelose, bartonelose, pielonefrite, piómetra, piodermite e endocardite; hepatite crónica; infeções a protozoários, tais como leishmaniose (transmitida por mosquitos flebótomos), dirofilariose (transmitida por mosquitos culicídeos), babesiose (transmitida por carrapatos) e hepatozoonose (transmitida por carrapatos); doenças auto-imunes (Lúpus eritematoso sistémico (LES), poliartrite imunomediada, anemia hemolítica auto-imune, entre outros) e neoplasia (por exemplo mastocitoma e linfoma) (Alho *et al.*, 2016; Breshears & Confer, 2017; Vaden, 2017; DiBartola & Westropp, 2014). As neoplasias têm sido reconhecidas como uma das causas de proteinúria e pensa-se que as glomerulopatias paraneoplásicas possam ocorrer secundariamente à diminuição da perfusão renal, lesões renais induzidas por produtos das células neoplásicas e à deposição de imunocomplexos (antigénio-anticorpo) (Crivellenti *et al.*, 2016; Prudic, Saba, Lourenço & Bugbee, 2018). Por outro lado, diversos estudos mostraram uma prevalência em cães entre 2% e 52% de GN imunomediada associada a causas infecciosas, tais como



anaplasmose, bartonelose, borreliose, babesiose, brucelose, ehrlichiose, hepatozoonose, leishmaniose e leptospirose (International Renal Interest Society [IRIS], 2013; Littman, 2011; Pierantozzi, Roura, Paltrinieri, Poggi & Zatelli, 2013; Roura *et.al.*, 2013). Estas doenças infecciosas (vírus, bactérias, protozoários e helmintes) transmitidas por carrapatos, pulgas, mosquitos e flebótomos são designadas por doenças transmitidas por vetores (VBD) (Alho *et al.*, 2016). As VBD são atualmente um problema de saúde humana e animal devido à sua frequência (cães residentes em países endêmicos apresentam um elevado risco de serem infetados), morbidade e potencial zoonótico. A sua expansão mundial pode estar associada a: (1) aumento da exposição a antigos e novos agentes infecciosos; (2) aumento da importação de cães de regiões endêmicas; (3) aumento do turismo e migrações intra-comunitárias na Europa; (4) grande número de animais selvagens; (5) mudanças demográficas e políticas; (6) alterações climáticas; (7) resistência a fármacos e (8) desflorestação e urbanização (Alho *et al.*, 2016; Schäfer *et al.*, 2019). A região do Mediterrâneo (clima ameno que favorece o desenvolvimento e sobrevivência de vetores) e o sudeste europeu constituem áreas endêmicas no continente europeu de *Leishmania* spp., *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* e *Dirofilaria immitis* (Schäfer *et al.*, 2019). Num estudo realizado em Portugal em cães militares presentes em Portugal continental e ilhas (com ou sem sinais clínicos), 49% destes eram seropositivos para anticorpos contra *Rickettsia* spp., 16% para *Anaplasma* spp., 13% para *Leishmania infantum*, e 7% para *Ehrlichia canis*, enquanto 66% dos cães foram positivos para pelo menos um agente e 25% foram positivos para mais de um agente (Alho *et al.*, 2016). Por outro lado, Cardoso *et al.* (2012) demonstraram anteriormente que 14% dos cães aparentemente saudáveis e 46,3% dos cães clinicamente suspeitos foram seropositivos para pelo menos um agente testado de *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Dirofilaria immitis*, *E. canis* e *L. infantum*. Já Menn *et al.* (2010) conduziram um estudo no sul de Portugal que revelou que 87% dos cães autóctones foram positivos a pelo menos um dos seguintes: *A. phagocytophilum*, *B. canis*, *E. canis*, *H. canis*, *L. infantum*, *R. conorii* e microfilárias.

Na GN imuno-mediada, os imunocomplexos podem ser depositados ao nível das células epiteliais, endoteliais ou mesangiais e a deposição dos mesmos é influenciada pela sua quantidade em circulação, pelo seu tamanho (complexos maiores são fagocitados por células do sistema mononuclear fagocitário no fígado e no baço, enquanto os pequenos ou intermédios não, sendo os mais prejudiciais) e carga molecular, pela força de ligação antígeno-anticorpo e ainda pela permeabilidade glomerular (é necessário que esta esteja aumentada para que os complexos imunes saiam da microcirculação e se depositem no glomérulo) (Breshears & Confer, 2017). Após deposição, os complexos imunes desencadeiam o recrutamento de células inflamatórias no local; libertação de mediadores inflamatórios e enzimas (proteinases, oxidantes e metabolitos do ácido araquidónico, como o tromboxano),

que danificam e/ou destroem estruturas glomerulares, como a MGB; liberação de aminas vasoativas de mastócitos, basófilos (estimulada por proteínas catiónicas de neutrófilos e complemento (C3a e C5a)) ou plaquetas (após liberação do fator ativador de plaquetas) e interagem com a IgE específica de antígeno na superfície dos mastócitos ou basófilos. Todas estas ações irão contribuir para o aumento da permeabilidade glomerular (Breshears & Confer, 2017). Se a exposição do glomérulo a complexos imunes for de curta duração, como numa infecção transitória (exemplo: hepatite infecciosa canina), os imunocomplexos serão fagocitados e removidos por macrófagos ou células mesangiais e as lesões glomerulares podem reverter-se. No entanto, se a exposição for contínua (como em infecções persistentes ou dirofilariose crônica) pode levar a doença glomerular progressiva, com lesões graves e sinais clínicos de doença glomerular (Breshears & Confer, 2017).

Por outro lado, a GN química é muito menos frequente no cão do que a GN imunomediada e também induz lesões glomerulares, nomeadamente ao nível das células epiteliais e/ou endoteliais, bem como pode promover reações imunológicas e respostas inflamatórias (incorporação de fármacos em imunocomplexos; formação e deposição de imunocomplexos ou de anticorpos antinucleares ou de anticorpos anti-MGB), podendo igualmente levar a proteinúria (Breshears & Confer, 2017; Harley & Langston, 2012). Alguns exemplos de fármacos que podem levar a glomerulonefrite são: trimetoprim-sulfonamida (antibiótico); ciclosporina A (imunossupressor); antibióticos com atividade anti-neoplásica, tais como a doxorrubicina e puomicina; antagonistas da histamina; inibidores da tirosina-quinase (masitinib e toceranib); o soro hiper-imune injetável, ouro e d-penicilamina (produzem imunocomplexos); e a procainamida e a hidralazina (podem promover a formação de anticorpos anti-MGB). (Breshears & Confer, 2017; Vaden, 2017).

Finalmente, a GN também pode ser classificada histologicamente em: (1) GN membranosa (mais comum), caracterizada por um espessamento difuso da MGB sem óbvio aumento da celularidade; (2) GN membranoproliferativa, caracterizada por hiper celularidade (proliferação de células endoteliais e epiteliais glomerulares e células mesangiais) e por um espessamento da MGB e do mesângio; e (3) GN proliferativa, onde prevalece a hiper celularidade (devido ao influxo de células inflamatórias, proliferação de células mesangiais ou ambos) (Breshears & Confer, 2017; DiBartola & Westropp, 2014).

#### **2.1.1.2. Amiloidose renal**

A amiloidose glomerular (a nível renal, os glomérulos são o local preferencial) é causada pela deposição glomerular de proteína amiloide A sérica polimerizada (proteína de fase aguda produzida pelo fígado em resposta à lesão tissular) em folhas  $\beta$ -pregueadas, juntamente com a substância P amiloide (glicoproteína), correspondendo a cerca de 15% das lesões

glomerulares em cães e a 23% dos cães com nefropatia com perda de proteína (Breshears & Confer, 2017; DiBartola & Westropp, 2014; Littman, 2011; Vaden, 2017).

Nos cães, a amiloidose surge, na maioria das vezes, em associação com outras doenças, nomeadamente doenças inflamatórias (infeciosas ou não) e neoplasias, tomando o nome de amiloidose reativa (Vaden, 2017). Contudo, a amiloidose renal idiopática também está descrita, até porque em muitos animais com amiloidose reativa não se consegue identificar a doença subjacente aquando do diagnóstico da mesma (Breshears & Confer, 2017; Vaden, 2017). Para além do rim, outros órgãos, como o fígado e baço, também podem ser afetados (Littman, 2011). Ao microscópio ótico observa-se um espessamento eosinofílico homogéneo na MGB e mesângio e os depósitos amilóides apresentam-se corados pelo Vermelho do Congo (DiBartola & Westropp, 2014; Littman, 2011).

A proteinúria decorrente da amiloidose reativa é normalmente massiva, o que sugere uma proteinúria de origem glomerular, causada pela deposição extracelular de proteína amiloide A sérica (Littman, 2011; Vaden, 2017). Deste modo, o síndrome nefrótico é relativamente comum nestes animais e esta doença está normalmente associada a um mau prognóstico (Littman, 2011). Além disso, na amiloidose reativa, os depósitos amilóides corados pelo vermelho do Congo perdem a afinidade por este corante após oxidação com permanganato, o que constitui uma forma de diferenciar a amiloidose reativa das restantes (DiBartola & Westropp, 2014).

Por outro lado, a amiloidose renal familiar (*Shar Pei*, *Beagles* e *Foxhounds* ingleses) atinge maioritariamente a medula e está geralmente associada a uma proteinúria de baixo grau, podendo mesmo estar ausente em alguns cães (Harley & Langston, 2012; Littman, 2011). Contudo, esta doença pode progredir para doença renal (Littman, 2011). 25% a 43% dos cães da raça *Shar Pei* com amiloidose familiar apresentaram proteinúria (Littman, 2011).

Por fim, também existe a amiloidose de cadeias leves, que pode surgir no mieloma múltiplo (MM) ou na amiloidose sistémica primária. Cerca de 80% dos pacientes com amiloidose de cadeias leves primária têm proteinúria (Ganeval, Lacour, Chopin & Grunfeld, 1990).

#### **2.1.1.3. Glomeruloesclerose**

A glomerulosclerose, segundo Vaden (2017) corresponde aproximadamente a 20% das lesões glomerulares de cães (Vaden, 2017). Esta pode ser difusa (atinge todos os glomérulos) ou multifocal, bem como pode ser global (envolve todo um glomérulo) ou segmentar (apenas parte do glomérulo) (Breshears & Confer, 2017). A glomerulosclerose também pode ser primária, como é o caso da glomeruloesclerose focal segmentar primária (GEFS), ou secundária, onde se desenvolve em resposta à lesão glomerular (Vaden, 2017). A GEFS primária tanto pode surgir devido a defeitos genéticos do podócito, já tendo sido descrita em

*Soft Coated Wheaten Terriers* e *Schnauzers* miniatura, como pode ser idiopática (Vaden & Brown, 2017). Contudo, esta também pode ocorrer em associação com GN imunomediada, toxinas, infecções virais ou perda de nefrônios, como ocorre, por exemplo na DRC. A GEFS, tanto a primária como a secundária são caracterizadas pela perda de podócitos e consequente solidificação (esclerose) de uma porção do glomérulo, com obliteração do lúmen capilar, podendo também serem observadas hialinose e sinéquias (aderências da porção esclerótica à cápsula de *Bowman*). No entanto, a GEFS primária não tem outras lesões glomerulares presentes que justifiquem a esclerose (Vaden, 2017; Vaden & Brown, 2017). A glomerulosclerose, para além de ser o estadio final da GN, também se pode desenvolver em qualquer doença crónica associada a perda de função renal, podendo surgir no hiperadrenocorticismismo, hipertensão sistémica e DM (Breshears & Confer, 2017). A sua prevalência aumenta com a idade, embora ainda não se saiba qual a percentagem de glomérulos afetada em cães mais velhos (Vaden, 2017).

Por outro lado, a glomerulosclerose reduz o fluxo sanguíneo da *vasa recta*, o que resulta em hipóxia ao nível das células epiteliais tubulares e consequente morte das mesmas por apoptose, o que também pode ser exacerbado pela presença de uma proteinúria crónica (Breshears & Confer, 2017). A proteinúria surge na glomerulosclerose por haver alterações na permeabilidade da parede capilar glomerular, já que esta, como já foi referido, corresponde ao mecanismo primário de retenção de proteínas (Breshears & Confer, 2017; Harley & Langston, 2012). A glomerulosclerose secundária ao hiperadrenocorticismismo ou hipertensão raramente leva a proteinúria de grande magnitude, pelo que quase nunca está associada a hipoalbuminémia (Littman, 2011).

#### **2.1.1.4. Doença de lesão mínima**

A doença de lesão mínima (MCD, do inglês *Minimal Change Disease*) é uma glomerulopatia com perda de proteína comum em pacientes humanos, especialmente crianças, embora seja raramente identificada em cães. Existem relatos isolados de cães que aparentemente tinham MCD, mas em apenas um (cão com síndrome nefrótico) a MCD está bem descrita (Breshears & Confer, 2017; Vaden, 2017). Por outro lado, o seu diagnóstico é feito com microscopia eletrónica de transmissão (TEM), pelo que a doença é provavelmente subdiagnosticada em cães (Vaden, 2017). Ao microscópio ótico não se detetam lesões glomerulares, podendo estar presente esporadicamente uma hiper celularidade leve (Vaden, 2017). A doença é caracterizada ultraestruturalmente pelo desaparecimento difuso e extenso dos pedículos podocitários, com depósitos mínimos ou inexistentes na MGB e pode haver um aumento da coloração com vimentina por imunofluorescência (Breshears & Confer, 2017; Vaden, 2017).

Pensa-se que a causa da MCD seja uma disfunção imunitária possivelmente relacionada com o aumento da produção de citocinas por células T disfuncionais, que levam a um aumento

na permeabilidade da MGB por perda de carga aniônica, que, por sua vez resulta no colapso dos podócitos (Breshears & Confer, 2017; Vaden, 2017). A perda de carga negativa da MGB explica a proteinúria, que normalmente é de alto grau, sendo a albumina (carga negativa) a principal proteína perdida (Vaden, 2017). Para além disto, o síndrome nefrótico é comum nestes animais (Littman, 2011).

Em cães, a MCD induzida por medicamentos já foi identificada, tendo sido descrita em cães tratados com o masitinib (antineoplásico) ou com anti-inflamatórios não esteróides, com resolução da proteinúria, em alguns pacientes, após a retirada do fármaco em questão (Breshears & Confer, 2017; Vaden & Brown, 2017). A MCD também já foi descrita em casos de ehrlichiose (Littman, 2011).

Por fim, é importante não esquecer que a identificação de lesões glomerulares menores num cão proteinúrico não é suficiente para fazer o diagnóstico de MCD, sendo sempre preciso recorrer a TEM (Vaden, 2017).

### **2.1.2. Tubulopatias**

A proteinúria de baixo nível ( $0,5 < \text{UPC} < 1,0$ ) pode derivar, entre outras causas, de uma incapacidade dos túbulos em reabsorver a proteína filtrada (indicando doença / disfunção tubular), que pode surgir tanto por lesão tubular, como por saturação dos recetores tubulares (Elliott *et.al.*, 2017; Harley & Langston, 2012).

O síndrome de *Fanconi* é uma tubulopatia hereditária, onde ocorrem falhas na reabsorção de bicarbonato de sódio, fosfato, ácido úrico, glicose, aminoácidos e proteínas de baixo peso molecular (o que leva a proteinúria tubular). Contudo, este síndrome também pode ser adquirido na sequência de eventos tóxicos para o rim (Littman, 2017). Outras tubulopatias hereditárias incluem a glicosúria (a base genética subjacente é desconhecida e já foi identificada em *Scottish Terriers* e *Norwegian Elkhounds*), cistinúria (diminuição da reabsorção tubular de cistina, com formação de urólitos de cistina), bem como urólitos de uratos (dálmatas) e de oxalato de cálcio (*Poodles Miniatura*, *Bichon Frisé*, *Dachshunds* têm predisposição para o hiperadrenocorticism, estando também predispostas à urolitíase de oxalato de cálcio devido a hipercalcúria) (Littman, 2017).

No que diz respeito às lesões tubulares secundárias à proteinúria, estas surgem porque quantidades excessivas de proteína no filtrado glomerular podem ser tóxicas para as células epiteliais tubulares e podem levar à inflamação intersticial, fibrose e morte celular (Elliott *et.al.*, 2017). Também o processamento excessivo dos lisossomas, essenciais para o catabolismo das proteínas em aminoácidos, pode levar a um aumento desmedido e consequente rutura dos mesmos, causando danos enzimáticos ao citoplasma (Elliott *et.al.*, 2017). Outra causa de lesão tubular que pode surgir em cães proteinúricos é a obstrução tubular com cilindros

proteínáceos. Por outro lado, o aumento da permeabilidade glomerular permite o contato das células tubulares com transferrina, que promove a absorção de ferro pelas células epiteliais, dando origem a lesões peroxidativas; com as proteínas do complemento, que podem ser ativadas na bordadura em escova das células tubulares proximais, resultando num ataque à membrana, seguido por dano do citoesqueleto e citólise; e com as lipoproteínas, que libertam moléculas lipídicas que tanto se podem acumular em gotículas lipídicas, como ser oxidadas em radicais tóxicos (Elliott *et.al.*, 2017). Consequentemente a estes processos que podem danificar irreversivelmente o túbulo e interstício, há a ativação de fibroblastos em miofibroblastos e ocorre uma fibrose excessiva que leva à perda subsequente de nefrónios (Elliott *et.al.*, 2017).

A leptospirose, doença bacteriana zoonótica com distribuição mundial, está normalmente associada a nefrite intersticial aguda e disfunção tubular (necrose tubular aguda menos frequente), dando portanto origem a uma proteinúria renal tubular em vez de glomerular (IRIS, 2013; Sykes et al., 2011).

### **2.1.3. Doença Renal Crónica (DRC)**

A disfunção glomerular que surge na DRC é definida como secundária (mal adaptativa), estando normalmente associada a uma baixa proteinúria. Esta surge devido à perda de nefrónios funcionais, que leva consequentemente a hipertensão capilar glomerular e a um aumento do fluxo de proteínas através do glomérulo (resposta adaptativa na DRC) (Elliott et al., 2017). Além disso, a proteinúria resultante pode sobrecarregar as células tubulares e levar consequentemente à degeneração e atrofia tubular (Harley & Langston, 2012; Vaden & Elliott, 2016). Assim, a capacidade das células tubulares proximais em lidar com as proteínas filtradas fica prejudicada, sendo a proteinúria exacerbada pela disfunção das células tubulares (Elliott et al., 2017). Os cilindros proteicos, por sua vez podem levar a obstrução tubular, lesando ainda mais as células (Vaden & Elliott, 2016). Num estudo, cães com RPCU superior a 1 tiveram um risco 3 vezes maior de desenvolver uma crise urémica e morte e o risco relativo de efeitos adversos aumentou 1,5 vezes por cada aumento de 1 no RPCU. Noutro estudo a proteinúria foi associada ao grau de comprometimento funcional (medido pela TFG) e cães com RPCU inferior a 1 viveram, em média, 2,7 vezes mais do que os cães com RPCU superior a 1 (Vaden & Elliott, 2016).

Por outro lado, como as mudanças adaptativas do rim são prejudiciais e levam a uma fibrose intersticial, inflamação e degeneração e atrofia tubular e, consequentemente, a uma maior perda de nefrónios, nos animais em que há progressão da doença renal, os níveis de proteína na urina serão, à partida, mais altos em comparação àqueles cuja DRC está estável (Elliott et al., 2017; Vaden & Elliott, 2016). Desta forma, num cão azotémico com DRC, a avaliação do grau de proteinúria é uma parte importante da classificação da doença, nomeadamente no

seu subestadiamento (tabela 1), mas também é um indicador prognóstico negativo, sendo considerado um marcador de progressão/agravamento da doença (Elliott et al., 2017). Além disso, a identificação precoce e o tratamento da proteinúria são importantes no cão, pois podem levar à identificação precoce e ao tratamento de várias doenças sistêmicas, como certas doenças infecciosas, que, se persistirem, podem danificar cronicamente o rim (Elliott et al., 2017). Todavia, deve-se ter em consideração que a proteinúria associada a doença glomerular grave (proteinúria significativa) pode ir diminuindo à medida que a doença progride devido a uma diminuição no número de nefrônios funcionais através dos quais a proteína pode ser perdida (Elliott et al., 2017).

**Tabela 1:** Estadiamento e sub-estadiamento da DRC canina, segundo a IRIS (IDEXX, 2017).

ESTADIAMENTO				
	<b>Estadio 1</b>	<b>Estadio 2</b>	<b>Estadio 3</b>	<b>Estadio 4</b>
	Não azotêmico	Leve	Moderado	Grave
Creatinina (mg/dL)	<1.4	1.4-2	2.1-5.0	>5.0
SDMA (µg/dL)	>14	>14	Moderadamente aumentada	Marcadamente aumentada
<b>*Considerar próximo estadio baseado na creatinina</b>		≥25*	≥45*	
SUBESTADIAMENTO				
RPCU	Não proteinúrico <0.2 / <i>Borderline</i> proteinúrico 0.2-0.5 / Proteinúrico >0.5			
PAS (mmHg)	Normotensivo <150 / <i>Borderline</i> hipertensivo 150-159 / Hipertensivo 160-179 / Gravemente hipertensivo ≥180			

## 2.2. Doenças endócrinas

### 2.2.1. Hiperadrenocorticism (Síndrome de *Cushing*)/ Hiper cortisolismo

O Síndrome de *Cushing* é normalmente acompanhado por aumento da TFG (medição da *clearance* de iohexol ou creatinina), proteinúria, hipertensão e diminuição da capacidade de concentração da urina (USG geralmente abaixo de 1.020 e por vezes hipostenúria), já que o excesso de cortisol pode alterar a osmorregulação da ADH ao nível do hipotálamo e/ou neuro-hipófise, bem como pode promover resistência renal à ADH e regular negativamente os transportadores renais de ureia, importantes na osmolaridade renal (Polzin, 2017b; Smets *et.al.*, 2010). Estas alterações ocorrem tanto no HAC espontâneo como no iatrogénico (Polzin, 2017b).

Um estudo mais antigo com 16 cães com HAC, detetou proteinúria em 75% dos casos e em estudos mais recentes a proteinúria ocorreu em 44-75% dos cães com HAC (Smets *et.al.*, 2010; 2012a). Contudo, os efeitos do síndrome de *Cushing* na função renal ainda não estão

completamente esclarecidos, até porque se tem mostrado difícil fazer a diferenciação entre os efeitos dos glucocorticóides e os efeitos da doença renal (concomitante ou secundária ao HAC) (Smets *et.al.*, 2011). Pensa-se que há a possibilidade do HAC poder efetivamente causar efeitos adversos a longo prazo nos rins (Polzin, 2017b). Neste sentido, foram realizados vários estudos, nomeadamente Smets *et.al.* (2011) avaliaram a função renal em cães com síndrome de *Cushing* sem tratamento instaurado, utilizando parâmetros renais de rotina, bem como TFG e biomarcadores urinários glomerulares e tubulares (Smets *et.al.*, 2011). No grupo doente verificaram-se aumentos marcados no RPCU, bem como nas albumina e imunoglobulina (Ig) G urinárias, fato que aponta para uma proteinúria de origem glomerular, por hipertensão glomerular, mas mais provavelmente por alteração da permeabilidade seletiva glomerular (a barreira glomerular é normalmente impermeável à IgG) (Smets *et.al.*, 2011). Para além disto, a elevação das proteínas de ligação ao retinol e da N-acetil- b-D -glicosaminidase indica proteinúria de origem tubular. Deste modo, conclui-se que tanto a função glomerular como a tubular podem estar alteradas em cães com síndrome de *Cushing*, dando origem à proteinúria, mas continua a ser difícil perceber se esta proteinúria está relacionada apenas com o síndrome de *Cushing* ou com a doença renal subjacente (Smets *et.al.*, 2011). Outros estudos também demonstraram que a administração a curto prazo de glucocorticóides aumenta a TFG em cães (Smets *et.al.*, 2011).

Outro estudo desenvolvido para se tentar aferir os efeitos dos glucocorticóides na função renal utilizou 11 *Beagles* com 10 anos para avaliar a TFG, alterações estruturais renais (através de biópsias), proteinúria antes e depois da administração de hidrocortisona (Smets *et.al.*, 2012b). Deste trabalho concluiu-se que a administração de hidrocortisona aumenta reversivelmente a TFG e que a proteinúria, o rácio albumina-creatinina urinário, a IgG e a proteína de ligação ao retinol aumentaram após a administração de hidrocortisona. Por outro lado, a proteinúria, após a cessação da hidrocortisona diminuiu, não tendo progredido ao longo de 2 anos e animais com alterações glomerulares mais graves tiveram RPCUs mais elevados (Smets *et.al.*, 2012b). Entre as alterações estruturais observadas, aquelas que poderão eventualmente ter contribuído para a proteinúria foram a glomeruloesclerose, apagamento do processo podocitário e alterações na MGB (enrugamento, espessamento, deslaminação e rarefação). No entanto, enquanto a proteinúria diminuiu após o término do tratamento, estas alterações mantiveram-se pelo menos até 4 semanas após (Smets *et.al.*, 2012b).

Vários mecanismos têm sido sugeridos para explicar o aumento da TFG que surge no HAC, entre eles: (1) um aumento no fluxo plasmático renal (FPR); (2) diminuição da resistência vascular renal (RVR); (3) interação dos corticóides com hormonas vasoativas, pois estes podem atenuar a ação renal da angiotensina II e anular a atividade da enzima conversora de angiotensina no córtex renal; (4) vasodilatação das arteríolas aferente e eferente glomerulares mediada pelo monóxido de azoto e pela interação dos glucocorticóides com prostaglandinas,



que por sua vez diminui a fração de filtração (FF); (5) efeitos catabólicos dos corticóides, que resultam numa elevação dos aminoácidos plasmáticos vasodilatadores, que aumentam por sua vez o FPR; (6) os glucocorticóides também podem levar a um incremento da PAS e consequentemente a um aumento da pressão intra-glomerular e da TFG (Smets et al., 2012a, 2012b). Assim, os glucocorticóides elevam a TFG devido a um aumento do fluxo sanguíneo renal, apesar do declínio da FF (Polzin, 2017b).

Smets et al. (2012a) verificou posteriormente que a TFG diminui após o tratamento do síndrome de *Cushing* (trilostano ou hipofisectomia transfenoidal associada a acetato de cortisona, levotiroxina e desmopressina), bem como a proteinúria (presente em 68% dos animais antes do tratamento, com um valor médio de RPCU de 1,66, valor mínimo de 0,01 e máximo de 16,32) e outros marcadores renais. Contudo, após 12 meses de tratamento, a proteinúria persistiu em 38% dos cães (Smets et al., 2012a). Foi também relatado que o tratamento durante 6-12 meses com trilostano melhora a capacidade de concentração renal, em alguns casos, tendo-se verificado que a atividade da renina plasmática nos cães estava aumentada. Deste modo, pode haver ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona e vasoconstrição renal, que resultam na contração das células mesangiais e redução da superfície de filtração e da TFG (Smets et al., 2012a). Já a hipofisectomia pode comprometer a produção de ADH, pelo que não consegue restaurar totalmente a capacidade de concentração renal; no entanto, este estudo sugere que cães tratados cirurgicamente têm menor probabilidade de permanecer proteinúricos do que cães tratados clinicamente (Smets et al., 2012a). Por outro lado, este estudo também sugere que a proteinúria após hipofisectomia será, à partida, um sinal de recorrência de HAC ou de uma outra doença concomitante (Smets et al., 2012a).

Em medicina humana, pensa-se que o tratamento com glucocorticóides exógenos possa levar a um aumento na produção de cistatina C (CysC), que é livremente filtrada pelo glomérulo e completamente catabolizada pelos túbulos renais (Marynissen *et.al.*, 2016b). Neste contexto foi desenvolvido um estudo em que um dos objetivos era avaliar a CysC sérica e diversos parâmetros renais (creatinina e ureia séricas, RPCU, PAS, TFG e outros marcadores urinários) em cães com HAC no momento do diagnóstico e 3, 6 e, em alguns casos, 12 meses após o tratamento (Marynissen *et.al.*, 2016b). Relativamente aos resultados, a proteinúria foi observada em 60% dos cães com HAC no momento do diagnóstico e esta diminuiu significativamente após o tratamento (RPCU), bem como a TFG, o que está em concordância com trabalhos anteriores (Marynissen *et.al.*, 2016b). Também não houve uma diferença significativa na CysC sérica em cães com HAC antes e após o tratamento, pelo que se pôs a hipótese de que a exposição prolongada a um hipercortisolismo (endógeno) não leva a um aumento da CysC sérica, ao contrário dos corticosteróides em alta dose e ação curta, até porque pacientes humanos que estavam a ser medicados com corticosteróides de ação

prolongada não sofreram qualquer alteração na CysC sérica (Marynissen *et.al.*, 2016b). Por outro lado, a disfunção renal observada em alguns dos cães com HAC não foi acompanhada por um aumento da CysC sérica. Assim, a falta de alterações significativas na CysC sérica em cães com HAC mostra que talvez seja importante definir outro intervalo de referência para a CysC sérica em animais mais velhos, devido às alterações renais associadas à idade (Marynissen *et.al.*, 2016b).

### **2.2.2. Diabetes *mellitus***

A panóplia de complicações associadas à DM no cão é semelhante ao que se verifica em Medicina Humana e inclui hipertensão sistêmica, proteinúria, nefropatia e retinopatia (Herring, Panciera. & Werre, 2014; Mazzi, Fracassi, Dondi, Gentilini & Bergamini, 2008). No entanto, uma vez que os cães têm uma esperança média de vida inferior e que a DM não é muito prevalente nestes animais, estas complicações não têm sido relatadas com frequência em pacientes diabéticos caninos (Priyanka, Jeyaraja & Thirunavakkarasu, 2018). Porém, como a longevidade dos cães tem vindo a aumentar, pensa-se que pode haver um aumento da ocorrência destas complicações em cães diabéticos (Priyanka *et al.*, 2018).

A proteinúria é uma das características mais frequentes da nefropatia diabética (ND) humana (Amorim, Kurtz & Siqueira, 2013). No que diz respeito à prevalência da proteinúria em cães diabéticos, Priyanka *et al.*, (2018) detetaram a presença de proteinúria em 17,65%, enquanto Herring *et al.* (2014) observaram proteinúria em cerca de 55% e Mazzi *et al.* (2008) referiram proteinúria em 20% dos pacientes diabéticos.

Por outro lado, a hipertensão sistêmica surge secundariamente à arteriosclerose e aumento da resistência vascular periférica e desempenha um papel importante no desenvolvimento e progressão da ND (Mazzi *et al.*, 2008; Priyanka *et al.*, 2018). De acordo com um trabalho de Mazzi *et al.* (2008), não foi encontrada uma correlação significativa entre hipertensão sistêmica e proteinúria, pelo que outros fatores, além da hipertensão estarão envolvidos no aparecimento de proteinúria.

A hiperglicémia crónica decorrente da DM leva à hiperfiltração glomerular, que por sua vez vai provocando progressivamente lesões na microcirculação e consequentemente esclerose glomerular. Com a alteração da permeabilidade seletiva glomerular que surge na glomerulosclerose, pode, consequentemente, haver perda de proteínas pela urina (Amorim *et al.*, 2013).

Por outro lado, a hiperglicémia crónica também está associada à formação de produtos de glicação avançada (AGEs), que são capazes de modificar irreversivelmente as propriedades químicas e funcionais das estruturas biológicas e acumulam-se em grandes quantidades na MGB, células mesangiais, podócitos e nas células tubulares renais, conduzindo a lesões

celulares e tissulares ao nível renal (Barbosa, Oliveira & Tojal e Seara, 2008). A glicação não enzimática de proteínas (reação de *Maillard*) pode então levar: (1) à formação de radicais livres, que promovem *stress* oxidativo; (2) à criação de ligações cruzadas com proteínas, que levam a alterações morfológicas e/ou funcionais e (3) a interações com recetores celulares, levando a um aumento da expressão de mediadores inflamatórios (Amorim et al., 2013; Barbosa et al., 2008). Existem sistemas enzimáticos que constituem mecanismos de defesa contra a acumulação de AGEs, contudo quando estes estão presentes em quantidades excessivas, como ocorre na DM, hiperlipidémia, insuficiência renal e dietas com alto teor de AGEs, esses sistemas podem ser sobrecarregados e suplantados (Barbosa et al., 2008).

Por fim, a formação de AGEs é em grande parte endógena, apesar destas também poderem advir da dieta (AGEs dietéticos), sendo os alimentos ricos em lípidos os maiores contribuintes (Barbosa et al., 2008).

### **2.3. Doenças mieloproliferativas**

Existem diversas doenças mieloproliferativas que podem produzir imunoglobulinas anómalas, tais como mieloma múltiplo (MM), Macroglobulinemia de *Waldenstrom's*, linfoma e leucemia linfocítica. Deste modo, estas doenças dão origem a uma elevação das proteínas plasmáticas à custa das imunoglobulinas (proteinúria pré-renal) (Burton, 2017; Vail, 2017). Contudo, o linfoma está mais frequentemente associado a proteinúria de origem renal, por mediação inflamatória e consequentes alterações glomerulares estruturais e comprometimento da permeabilidade seletiva glomerular (Di Bella, et al., 2013). Por outro lado, num estudo desenvolvido em cães com leucemia linfocítica, mais de 50% apresentavam gamapatia monoclonal e, destes, 40% apresentavam proteinúria monoclonal de *Bence Jones* (BJ) (Leifer & Matus, 1986).

O MM representa menos de 1% de todas as neoplasias malignas e 8% dos tumores hematopoiéticos. A idade média dos cães afetados é cerca de 8,5 anos (Geigy et al., 2013). Este tem origem nos plasmócitos ou linfócitos B, correspondendo a uma população neoplásica clonal que produz apenas um tipo de imunoglobulinas (Cowgill, Neel & Ruslander, 2004; Geigy et al., 2013; Kim et al., 2018). Deste modo, o mieloma múltiplo é a causa mais frequente de gamapatia monoclonal no cão e a proteína M (monoclonal) produzida pelas células neoplásicas pode representar uma molécula inteira de Ig de qualquer classe ou apenas uma porção da mesma, que pode por sua vez corresponder a uma cadeia leve (proteína de BJ ou paraproteína) ou a uma cadeia pesada (doença da cadeia pesada) (Cowgill et al., 2004; Geigy et al., 2013; Vail, 2017). As paraproteínas, que se encontram geralmente elevadas no MM, podem então ser avaliadas recorrendo-se à eletroforese de proteínas urinárias e/ou séricas (Cowgill et al., 2004; Kim et al., 2018). A urina é o fluido corporal de eleição para deteção de proteínas de BJ, sendo as cadeias leves monoclonais urinárias reconhecidas em 25-40% dos

cães com MM (Cowgill et al., 2004). Em cães, as proteínas M mais comuns são as IgG e IgA e as gamopatias biclonais são raras, mas já foram descritas (Cowgill et al., 2004). A etiologia e patogenia do MM no cão ainda permanecem pouco esclarecidas. No entanto, tem sido sugerido que alterações moleculares, infecções virais, estimulação imunológica crônica e exposição a substâncias carcinogênicas possam estar envolvidos (Vail, 2017).

Após a instalação da doença podem surgir várias alterações decorrentes da infiltração tumoral nos vários órgãos e/ou da presença de uma grande concentração de componente M circulante, tais como lesões ósseas osteolíticas (25% a 75% dos cães), que afetam mais frequentemente vértebras, costelas, pelve, crânio e ossos longos proximais (ossos envolvidos na hematopoiese); doença renal; hipercalcemia (15% a 20% dos cães), que resulta maioritariamente da produção tumoral do fator ativador de osteoclastos, outras citocinas ou da proteína relacionada com a hormona da paratiróide N-terminal, mas também pode derivar da doença renal; síndrome de hiperviscosidade, cuja magnitude está associada ao tipo, tamanho, forma e concentração do componente M no sangue e que pode levar a diátese hemorrágica, sinais neurológicos e oftálmicos; trombocitopenia e leucopénia devido à substituição de células da medula óssea normal por plasmócitos neoplásicos; anemia (frequentemente normocítica, normocrômica e não regenerativa), pelo motivo anterior, como também pela presença de doença crônica e perda de sangue; imunodeficiência e alterações cardíacas (Silva et al., 2008; Vail, 2017).

A proteinúria surge frequentemente no MM e a presença de uma proteinúria de BJ está fortemente associada a doença renal. Tendo em conta que as proteínas de BJ são de baixo peso molecular (22,000 Da), estas passam para o filtrado glomerular, sendo reabsorvidas e catabolizadas, na sua grande maioria, ao nível dos túbulos renais (Ganeval et al., 1990). Contudo, quando há uma produção excessiva de proteínas de BJ, as células tubulares vão ficando progressivamente sobrecarregadas e a sua capacidade catabólica e de reabsorção de proteínas fica comprometida, sendo as restantes excretadas na urina. A proteinúria de BJ também pode levar à formação de cálculos tubulares e libertação de mediadores inflamatórios (citocinas) por parte das paraproteínas (Kim et al., 2018). A doença renal ocorre então em 30% a 50% dos cães como resultado de: (1) proteinúria de *Bence Jones* (cadeia leve); (2) infiltração tumoral no tecido renal; (3) hipercalcemia; (4) amiloidose; (5) perfusão diminuída secundária a síndrome de hiperviscosidade; (6) desidratação ou (7) infeção ascendente do trato urinário (Silva et al., 2008; Vail 2017). A doença renal pode corresponder então a uma nefropatia por cálculos de proteínas de BJ (maioritariamente tubulares), cuja precipitação pode ser desencadeada por hipercalcemia, infeção, desidratação, agentes de contraste radiográfico e anti-inflamatórios não esteroides (Ganeval et al., 1990). Por outro lado, as proteínas de BJ podem ser tóxicas para o epitélio tubular proximal, podendo desenvolver-se secundariamente atrofia tubular e fibrose intersticial numa extensão variável (Ganeval et al.,

1990; Mayer, Kerr, Grier & MacDonald, 2008). Por fim, na monitorização da proteinúria é também importante ter em consideração que um aumento da proteinúria de BJ tanto pode resultar de um aumento na produção tumoral, como da doença renal (secundária ao MM) ou mesmo de ambos (Ganeval et al., 1990). Relativamente ao diagnóstico de MM no cão, este tem sido baseado na presença de pelo menos 2 dos seguintes critérios: (1) gamapatia monoclonal ou paraproteinémia; (2) radiografias com evidência de lesões ósseas osteolíticas; (3) > 10% de plasmócitos na medula óssea e (4) proteinúria de BJ (Kim et al., 2018).

Já a Macroglobulinemia de *Waldenstrom's* está comumente associada a uma proteinúria de baixo a médio grau e, contrariamente ao MM raramente existe envolvimento renal (Ganeval et al., 1990).

### 3. Classificação da proteinúria

A proteinúria pode ser classificada em proteinúria funcional (fisiológica ou benigna) ou patológica, que por sua vez se divide em causas urinárias (renais ou pós-renais) e não urinárias (pré-renais ou pós-renais) (tabela 2). Outra possível classificação é a divisão em proteinúria pré-renal, renal (fisiológica e patológica) e pós-renal, tendo sido esta última a classificação adotada neste trabalho (Elliott *et.al.*, 2017; Harley & Langston, 2012; Lees, Brown, Elliott, Grauer & Vaden, 2005).

**Tabela 2:** Classificação da proteinúria em fisiológica e patológica e suas causas. ICC: Insuficiência cardíaca congestiva; ITU: Inflamação do trato urinário; TG: Trato genital (Grauer, 2011).

Proteinúria Fisiológica	Proteinúria Patológica	
Atividade física exaustiva	<u>Causas não Urinárias</u>	<u>Causas Urinárias</u>
Convulsões	ICC	ITU (infecção bacteriana, cistite, urólitos, pólipos, neoplasia)
Febre	Hemoglobinúria/Mioglobulinúria	Inflamação parênquima renal (pielonefrite, renolitíase, neoplasia)
Exposição a calor ou frio extremos	Disproteinémia	Proteinúria Glomerular
Stress	Inflamação/Hemorragia TG	Proteinúria Tubular

A **proteinúria pré-renal** ocorre quando há um aumento na concentração de proteínas de baixo peso molecular no sangue que chega ao glomérulo, havendo, consequentemente, uma quantidade excessiva destas proteínas no filtrado glomerular, que podem sobrecarregar os processos de reabsorção do TCP (Elliott *et.al.*, 2017; Harley & Langston, 2012). É por este

motivo que a proteinúria pré-renal também é denominada por proteinúria de sobrecarga (Harley & Langston, 2012). Os diagnósticos diferenciais de hiperproteinémia incluem: (1) desidratação (hiperproteinémia relativa); (2) estimulação antigénica, como ocorre em doenças infecciosas e imuno-mediadas (gamopatias policlonais) e (3) produção de globulinas por neoplasias como linfoma-B, mieloma múltiplo (proteínas de BJ) e leucemia ou ainda macroglobulinemia de *Waldenstrom's* (rara) (gamopatias monoclonais) (Burton, 2017). De uma forma geral, a hemólise (hemoglobina), rabdomiólise (mioglobina) e tumores plasmocelulares (imunoglobulinas) são as principais causas de proteinúria pré-renal, já que tanto a hemoglobina e mioglobina como as imunoglobulinas são proteínas facilmente filtradas a nível glomerular (Elliott *et.al.*, 2017; Graham, 2017; Grauer, 2011). Assim sendo, a deteção destas proteínas em excesso no plasma e na urina, conjuntamente com os sinais clínicos das doenças que se podem acompanhar de hiperproteinémia e proteinúria são fundamentais no diagnóstico da condição subjacente (Elliott *et.al.*, 2017). Estas afeções que podem contribuir para o aparecimento de proteinúria pré-renal encontram-se apresentadas na tabela 3.

**Tabela 3:** Afeções e/ou doenças associadas à proteinúria pré-renal (Burton, 2017; Elliott, Grauer & Roura, 2017; Harley & Langston, 2012).

Afeções associadas à proteinúria pré-renal
Desidratação
Mieloma múltiplo
Macroglobulinemia de <i>Waldenstrom's</i>
Hemoglobinúria/Mioglobulinúria
Hipertensão sistémica
Reações a Fármacos

Já a **proteinúria renal** está associada a inúmeras afeções, que se encontram apresentadas na tabela 4, podendo ser dividida em proteinúria renal fisiológica e patológica (Lees et al., 2005). A proteinúria fisiológica é normalmente transitória e decresce quando a causa subjacente é retificada. Surge quando há alteração da fisiologia renal durante ou em resposta a fenómenos temporários, tais como atividade física exaustiva, convulsões, febre, exposição a calor ou frio extremos e *stress* (Elliott *et.al.*, 2017; Lees et al., 2005). Contudo, a redução do exercício também pode levar a proteinúria, como mostra McCaw, Knapp & Hewett (1985) num estudo em que a excreção urinária de proteína foi superior em cães confinados a gaiolas em comparação com aqueles cujo exercício físico foi considerado normal. Porém é importante não esquecer que o fator *stress* nos animais confinados também poderá ter contribuído para a proteinúria verificada (Harley & Langston, 2012). O mecanismo de ação da proteinúria

fisiológica ainda não é totalmente conhecido, mas pensa-se que a vasoconstrição, isquemia e congestão renal relativa possam intervir (Elliott *et.al.*, 2017). No que diz respeito à proteinúria renal patológica, esta surge quando: (1) há inflamação do interstício renal (proteinúria intersticial), nomeadamente em casos de pielonefrite, leptospirose, neoplasia renal, necrose tubular aguda e nefrolitíase, sendo frequentemente acompanhada por um sedimento urinário ativo e alterações ecográficas do rim e/ou (2) quando a função renal se encontra alterada, podendo então advir de um aumento da permeabilidade glomerular (proteinúria glomerular) ou da diminuição da reabsorção tubular (proteinúria tubular), como por exemplo no síndrome de *Fanconi*, que pode ser acompanhado de glicosúria sem hiperglicémia e de um aumento da excreção de eletrólitos (Elliott *et.al.*, 2017; Grauer, 2011; Harley & Langston, 2012; Lees *et.al.*, 2005). Uma vez excluídas as causas pré e pós-renais de proteinúria e não havendo sinais de inflamação ativa no exame do sedimento urinário (sedimento inativo) num animal com proteinúria persistente, a proteinúria renal será possivelmente de origem glomerular ou tubular, pelo que será importante quantificá-la com maior precisão (Elliott *et.al.*, 2017).

**Tabela 4:** Afeções e/ou doenças associadas à proteinúria renal. LES: Lúpus eritematoso sistémico; IBD: Doença inflamatória intestinal (Adaptado de Elliott, Grauer & Roura, 2017; Harley & Langston, 2012).

<b>Afeções associadas à proteinúria renal</b>	
- <u>Glomerulonefrite</u> (membranosa, membrano-proliferativa, proliferativa):	
Doenças transmitidas por vetores: Borreliose, Babesiose, <i>Rocky Mountain spotted fever</i> , Ehrlichiose, Hepatozoonose, Leishmaniose, Anaplasmosse, Rickettsiose	
Doenças virais: adenovírus canino tipo I	
Leptospirose	
Doenças Parasitárias: Dirofilariose, Tripanosomiose, Schistosomiose	
Infeção bacteriana crónica: Micoplasmose e Brucelose	
Neoplasia	
Doença gastrointestinal	
Alergias	
LES	
Sequelas de infeções bacterianas	
- <u>Amiloidose glomerular</u> ( <i>Beagle</i> , <i>Collie</i> , <i>English foxhound</i> , sendo familiar no <i>Shar pei</i> )	
- <u>Glomeruloesclerose</u> ( <i>Terranova</i> ):	
Hipertensão	
Corticoesteróides	
Hiperadrenocorticismo	
Idade	
- <u>Glomeruloesclerose focal segmentar</u> ( <i>Bullmastiff</i> , <i>Soft-coated wheaten terrier</i> )	
- <u>Doença de lesão mínima</u> (Pastor Alemão, secundário a <i>Ehrlichia canis</i> )	
- <u>Doença renal juvenil / displasia renal</u> ( <i>Beagle</i> , <i>Boxer</i> , <i>Cocker Spaniel</i> , Dálmata, <i>Doberman</i> , <i>Golden Retriever</i> , <i>Rottweiler</i> , <i>Shih Tzu</i> , <i>Weimaraner</i> , entre outros)	
- <u>Outras glomerulopatias ou nefropatias hereditárias</u> (glomerulopatias primárias)	

**Tabela 4 (continuação):** Afeções e/ou doenças associadas à proteinúria renal.  
LES: Lúpus eritematoso sistêmico; IBD: Doença inflamatória intestinal (Adaptado de Elliott, Grauer & Roura, 2017; Harley & Langston, 2012).

Afeções associadas à proteinúria renal
<u>Proteinúria fisiológica:</u>
Atividade física exaustiva
Convulsões
Febre
Exposição a calor ou frio extremos
Stress
Insuficiência renal aguda
Doença renal crônica
Pancreatite aguda
Doenças virais
Reações a Fármacos
Hipertensão arterial sistêmica
Diabetes <i>mellitus</i>
Hiperadrenocorticismo
Doenças imuno-mediadas (LES, anemia hemolítica imuno-mediada, poliartrite, hepatite)
Endocardite
Corticosteróides exógenos
Doenças inflamatórias severas (IBD, pele e dentária), neoplasia e doenças infecciosas

Por fim, a **proteinúria pós-renal** pode estar associada a processos patológicos que atingem o trato urinário (desde a pélvis renal até a uretra) e o trato genital, o que implica que a proteína é adicionada à urina após o rim (no ureter, bexiga ou uretra) (Elliott *et.al.*, 2017; Graham, 2017). De uma forma geral, as causas mais comuns de proteinúria pós-renal incluem infecção, inflamação, neoplasia e urolitíase (Graham, 2017). A inflamação do trato urinário está frequentemente presente nas outras três situações referidas acima, estando mais comumente relacionada com infecção bacteriana do trato urinário, que, por sua vez, também está associada a tumores e urólitos (Elliott *et.al.*, 2017). Por outro lado, a hemorragia, infecção ou inflamação do trato reprodutor, como por exemplo vaginite, metrite ou prostatite são causas pós-renais não urinárias de proteinúria (Grauer, 2011; Harley & Langston, 2012). Em muitos dos casos de proteinúria pós-renal, o cão apresentará estrangúria, disúria e polaquiúria, bem como a presença de sedimento ativo na urina (hematúria, piúria, células inflamatórias e microbiota) (Elliott *et.al.*, 2017; Grauer, 2011). Deste modo, para se aferir as causas da proteinúria pós-renal, normalmente a história e exame físico, a análise do sedimento urinário



e meios imagiológicos são suficientes e, uma vez resolvida a causa subjacente, a proteinúria nunca é persistente (Grauer, 2011; Harley & Langston, 2012).

A proteinúria pós-renal pode ser minimizada pela realização de uma cistocentese, pois esta diminui o risco de contaminação da urina com proteínas provenientes do trato urinário distal (Grauer, 2011; Harley & Langston, 2012). Contudo, apesar dos eritrócitos e leucócitos conterem proteínas, é necessária uma grande quantidade dos mesmos na urina para que ocorra uma proteinúria significativa. Assim, a contaminação da urina com sangue em pequenas quantidades decorrente de uma cistocentese, à partida não causará uma proteinúria significativa (Harley & Langston, 2012). É também importante referir que no decurso de uma doença prostática, o exudado inflamatório pode ascender até à bexiga e que a cistocentese deve ser evitada em casos de piómetra (Grauer, 2011).

## **4. Avaliação clínica da proteinúria**

### **4.1. Urina tipo II**

#### **4.1.1. Revisão dos parâmetros analisados na Urina tipo II**

A urianálise permite a avaliação das propriedades físicas e químicas da urina, abrangendo o exame microscópico de sedimento urinário e é um meio de diagnóstico que pode dar informações importantes acerca de alterações sistémicas, não só do trato urinário, como também do aparelho hepatobiliar, sangue periférico ou sistema endócrino (Alleman & Wamsley, 2017). Os métodos de colheita de urina incluem a colheita livre, algaliação e cistocentese, sendo esta última a recomendada, uma vez que evita contaminações do trato urinário distal e genital, é o método de eleição para cultura urinária, é bem tolerada pelos animais e apresenta um menor risco de infeção iatrogénica quando comparada com a algaliação. O método deve ser escolhido consoante o propósito da análise e deve ser tido em conta na interpretação dos resultados, bem como o momento da colheita em relação à ingestão de água ou comida ou o tempo que a urina ficou retida na bexiga; a administração de substâncias (para tratamento ou diagnóstico), como fluidoterapia ou diuréticos e a manipulação da amostra antes da análise (Alleman & Wamsley, 2017). Após a colheita, a urina deve ser colocada num recipiente estéril, devendo ser analisada até 60 minutos depois. Caso não seja possível, pode-se optar por refrigerar a amostra (devendo depois ser aquecida até à temperatura ambiente), o que permite a sua preservação até cerca de 12 horas. Contudo, não se deve recorrer a conservantes químicos da urina nem à congelação (Alleman & Wamsley, 2017).

No que diz respeito às propriedades físicas avaliadas na urina tipo II, estas incluem: cor, turvação, odor e densidade urinária (Sink & Weinstein, 2012). A urina normal é transparente

ou ligeiramente turva (se algumas células epiteliais ou cristais presentes) e pode apresentar vários tons de amarelo devido à presença de pigmentos naturais na urina (urocromos) (Alleman & Wamsley, 2017). De uma forma geral, o amarelo claro indica uma urina mais diluída e o amarelo escuro corresponde a uma urina mais concentrada (Sink & Weinstein, 2012). No entanto, como uma cor pode ter inúmeras causas, este parâmetro não deve ser interpretado isoladamente para avaliar a capacidade de concentração renal. Por outro lado, uma urina turva pode indicar a presença de células, cristais, cilindros, microrganismos, lípidos, muco ou sémen (Alleman & Wamsley, 2017). Deste modo, deve-se recorrer à análise química e ao exame microscópico do sedimento para aferir com mais certeza a causa da pigmentúria (presença de hemoglobina, bilirrubina, eritrócitos, fármacos e seus metabolitos, entre outros na urina ou até mesmo devido à exposição à luz), bem como as causas da turvação da urina (Alleman & Wamsley, 2017; Sink & Weinstein, 2012).

Já a USG é utilizada para aferir a capacidade de concentração tubular renal e é determinada por refratometria (método indireto que se baseia no índice de refração da urina), existindo outras técnicas que já não são muito utilizadas na prática clínica (Alleman & Wamsley, 2017; Sink & Weinstein, 2012). A composição da urina é cerca de 95% de água e 5% de solutos, que incluem inúmeros eletrólitos (potássio, fosfato, amónia, Na<sup>+</sup>, cloreto (Cl<sup>-</sup>) e cálcio) e produtos do metabolismo (ureia e creatinina) e cuja quantidade, tamanho e peso influenciam a USG. Por exemplo, compostos maiores, como ureia, glicose ou proteínas podem levar a uma sobrestimação da USG, quando comparadas com o Na<sup>+</sup> ou Cl<sup>-</sup> (Sink & Weinstein, 2012). A presença de células, cristais, muco e bactérias também pode elevar a USG, porém este problema pode ser evitado ao se fazer a medição da USG no refratómetro utilizando apenas o sobrenadante após a centrifugação da amostra de urina (Elliot et al., 2017). Outro fator a ter em consideração é a temperatura da urina no momento da medição, que deve ser a ambiente, já que um líquido frio é mais denso que um quente (Elliot et al., 2017).

A USG pode então ser dividida em 4 categorias, apresentadas na tabela 5, mediante o valor relativo da densidade do filtrado glomerular (ainda não modificada pelos túbulos renais), que varia de 1,008 a 1,012 (Elliott *et.al.*, 2017). A interpretação da USG deve ser feita tendo também em conta a idade do paciente, estado de hidratação, doenças concomitantes, concentrações séricas de ureia e creatinina, concentrações de glicose e proteína na urina e terapêutica recente ou em curso (fluidoterapia, glicose, diuréticos, anticonvulsivantes, entre outros) (Alleman & Wamsley, 2017). A USG não é muito sensível na deteção precoce de doença renal. No entanto, num animal azotémico esta auxilia a localizar a causa da azotémia em pré-renal, renal ou pós-renal (tabela 6). Geralmente, se a azotémia for pré-renal, em que a função renal ainda é normal, há uma resposta à diminuição da perfusão de forma a ocorrer conservação de água, o que resulta na produção de uma urina concentrada, ou seja, com uma alta USG. Por outro lado, na azotémia de origem renal, como, normalmente, a

conservação de água é insuficiente, há produção de urina mais diluída (minimamente concentrada) ou mesmo isostenúrica. Já os valores de USG na azotemia pós-renal são variáveis (Alleman & Wamsley, 2017).

**Tabela 5:** Classificação da densidade urinária (USG) e seu significado clínico no cão (Alleman & Wamsley, 2017).

Classificação	USG	Significado
<b>Concentração normal</b>	$\geq 1.030$	Capacidade de concentração tubular normal (em animais jovens a urina pode estar menos concentrada)
<b>Concentração mínima</b>	1.013-1.029	Diminuição da densidade urinária devido a ingestão recente de água ou fluidoterapia (normal) Valor inadequado em animais azotêmicos desidratados Pode ser observado em animais com doença renal Causas de Poliúria/Polidipsia devem ser investigadas
<b>Isostenúria</b>	1.008-1.012	Diminuição da densidade urinária devido a ingestão recente de água ou fluidoterapia (normal) Valor inadequado em animais azotêmicos desidratados Pode ser observado em animais com doença renal Causas de Poliúria/Polidipsia devem ser investigadas
<b>Hipostenúria</b>	$< 1.008$	Túbulos renais ainda conseguem produzir uma urina diluída, o que diminui a probabilidade de doença renal Valor inadequado em animais azotêmicos desidratados Outras causas: - Poliúria (perda de concentração intersticial medular) - Hiperadrenocorticism/Hipercortisolismo - Hipercalcemia - Doença hepática - Piómetra (por exposição a endotoxinas) - Polidipsia psicogénica - Diabetes <i>insipidus</i> - Agentes terapêuticos (anticonvulsivos, diuréticos, fluidoterapia, glucocorticóides e tiroxina em excesso)

**Tabela 6:** Correlação entre a densidade urinária e a localização anatômica e causas da azotemia no cão (Alleman & Wamsley, 2017).

Localização da azotemia	Densidade urinária	Causas da azotemia
<b>Pré-renal</b>	> 1.030	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hipoperfusão renal</li> <li>Aumento da produção de produtos azotados</li> </ul>
<b>Renal</b>	1.008-1.029	<ul style="list-style-type: none"> <li>Disfunção renal 1ª (diminuição da remoção de produtos azotados da circulação)</li> </ul>
<b>Pós-renal</b>	Variável	<ul style="list-style-type: none"> <li>Obstrução uretral ou rutura de bexiga (redução da eliminação de produtos azotados)</li> </ul>

Já os metabolitos que podem ser detetados na análise química da urina são: bilirrubina, glicose, urobilinogénio, nitritos, eritrócitos, corpos cetónicos e proteínas (proteinúria detetada pelas tiras de urina irá ser abordada posteriormente) e alterações no pH, que são um reflexo do equilíbrio ácido-base do organismo e influenciam fortemente a formação de cristais e cilindros, bem como o número de células observadas no sedimento urinário (Alleman & Wamsley, 2017; Sink & Weinstein, 2012). Deve-se também ter em conta que o urobilinogénio e os nitritos têm pouca relevância clínica em cães e gatos (Vientós-Plotts et al., 2017).

Por outro lado, o exame microscópico do sedimento urinário deteta o incremento das concentrações de células (eritrócitos, leucócitos, células epiteliais, neoplásicas, entre outras), microrganismos (maioritariamente bactérias), cilindros ou cristais, podendo dar informações acerca da doença subjacente do trato urinário. A análise deste sedimento é afetada pela sua concentração e pela preservação da morfologia celular, que por sua vez são influenciadas pela técnica usada para preparar e examinar o sedimento, por potenciais contaminantes da coloração (como o azul de metileno) e por outros parâmetros da urina tipo II (USG, bilirrubinúria, cetonúria, glicosúria e alterações no pH), apresentadas com maior detalhe na tabela 7 (Alleman & Wamsley, 2017).

No que toca ao conteúdo celular da urina, os eritrócitos são praticamente translúcidos, podendo ser alaranjados devido à hemoglobina e têm normalmente a forma de disco bicôncavo. Contudo, a sua forma varia com a tonicidade da urina (tabela 7) (Alleman *et.al.*, 2017). Em relação ao número, devem haver menos de 5 glóbulos vermelhos por campo, contudo este pode ser influenciado pela técnica de colheita da urina. Se este número for

superior, a hematúria pode estar associada a infecção, inflamação, neoplasia, toxicidade, traumatismo ou coagulopatias (Alleman & Wamsley, 2017). Já os leucócitos, são tipicamente acinzentados e redondos com uma aparência crenada, cujos núcleos segmentados são regularmente observados, e são maiores que os eritrócitos e menores que as células epiteliais. Certos leucócitos contêm grânulos que correspondem a estruturas refringentes no seu interior (Alleman & Wamsley, 2017). Se a urina for colhida por cistocentese devem haver menos de 3 leucócitos por campo, enquanto se for colhida por algaliação ou livremente devem haver menos de 8 leucócitos por campo. Por outro lado, se para além da leucocitúria forem observadas piúria e bacteriúria concomitantes, uma inflamação ativa do trato urinário associada a infecção bacteriana deve estar em curso. Nestes casos, a cultura de urina é útil, pois permite a identificação de microrganismos e determinação da sua sensibilidade aos antibióticos (Alleman & Wamsley, 2017). As células epiteliais, por outro lado, aparecem com alguma frequência no sedimento (menos de 5 por campo), já que no trato genitourinário estão constantemente a ser renovadas. Um aumento no seu número pode ser devido a inflamação, hiperplasia ou neoplasia da mucosa, mas também pode ocorrer em amostras colhidas por algaliação. Existem diferentes tipos de células epiteliais (escamosas, de transição, tubulares e neoplásicas); no entanto, como estas são pleomórficas e sofrem degenerescência quando contactam com a urina, tornando-se redondas, a sua diferenciação é muito difícil. Podem também ser observadas células epiteliais de transição atípicas na ausência de inflamação, muito sugestivas de carcinoma das células de transição (Alleman & Wamsley, 2017).

No sedimento urinário também podem ser encontradas bactérias, que normalmente estão associadas a ITU, mas também podem aparecer por outros motivos, como por multiplicação excessiva após a colheita ou contaminação durante a colheita ou processamento. O exame citológico do sedimento é bastante sensível e específico para detetar bactérias. Por outro lado, em alguns casos em que há presença de microbiota no sedimento, a cultura de urina pode ser negativa devido a contaminações, erros laboratoriais, armazenamento prolongado da amostra, administração prévia de antibióticos, bem como devido ao fato de certos microrganismos que podem provocar ITU, como o *Mycoplasma spp.* terem exigentes requisitos nutricionais e um crescimento fastidioso (Alleman & Wamsley, 2017).

A cristalúria aparece quando a urina se encontra saturada de minerais ou outras substâncias cristalogénicas que precipitam, dando origem a cristais. Os cristais podem-se formar por causas patológicas (cristais de biurato de amónio, oxalato de cálcio mono-hidratado, cistina, entre outros) ou não patológicas (por exemplo cristais de fosfato de amónio e magnésio (estruvite) ou de fosfatos amorfo em pequenas quantidades são muitas vezes observados em cães clinicamente saudáveis). Por outro lado, os cristais também podem resultar de fatores que ocorrem após a colheita (temperatura fria, armazenamento prolongado, alterações no pH ou evaporação da água da amostra) (Alleman & Wamsley, 2017). A avaliação do tipo de

cristais presentes pode dar uma ideia acerca da constituição mineral dos urólitos (não sendo um indicador definitivo, pois muitos cristais são heterogêneos), enquanto se aguarda pela sua análise completa. No entanto, a cristalúria não indica obrigatoriamente a presença de urólitos ou predisposição para a formação dos mesmos (Alleman & Wamsley, 2017). Como já foi mencionado anteriormente, o pH da urina influencia a formação de cristais. Assim sendo, uma urina ácida predispõe a formação de cristais de biurato de amônio (dourados e com forma esférica com saliências irregulares), bilirrubina (grânulos ou em forma de agulha laranjas a castanho avermelhado), oxalato de cálcio mono e di-hidratados (incolores, com forma de octaedro), cistina (hexágonos planos incolores), metabolitos da sulfonamida, uratos amorfos (restos amorfos ou pequenas esferas de cor amarela acastanhada a preta), ácido úrico (forma plana entre diamante e retângulo); uma urina neutra pode levar à precipitação de cristais de biurato de amônio, oxalato de cálcio mono e di-hidratados, cistina, estruvite (incolores, com forma de prisma de três a oito lados, agulha ou cristais planos com extremidades oblíquas e compostos por fosfato de amônio e magnésio) e uma urina alcalina pode resultar na formação de cristais de carbonato de cálcio (ainda não detetado em cães e gatos), oxalato de cálcio di-hidratado (amostras armazenadas), estruvite e fosfatos amorfos (restos amorfos ou pequenas esferas incolores ou amarelo pálido) (Alleman & Wamsley, 2017). Para além do pH da urina existem outras causas para a precipitação de cristais. Os cristais de estruvite podem surgir por refrigeração da amostra superior a 1 hora, em animais clinicamente saudáveis (frequente), infecção estéril ou associada a urólitos mistos; os de oxalato de cálcio di-hidratado também por refrigeração da amostra superior a 1 hora e em animais clinicamente saudáveis (mas menos frequente), urólitos de oxalato de cálcio, hipercalcúria (secundária a hipercalcémia ou hipercortisolémia), hiperoxalúria (ingestão de vegetais com oxalato na sua constituição, etilenoglicol ou chocolate), podendo esta última dar também origem a cristais de oxalato de cálcio mono-hidratado; os de bilirrubina também ocorrem em animais clinicamente saudáveis em pequenas quantidades (principalmente em machos) e por alterações no metabolismo da bilirrubina (causas pré-hepáticas, hepáticas e pós-hepáticas); os fosfatos amorfos não têm significado clínico; os uratos amorfos por malformações portovasculares e doença hepática grave; os cristais de biurato de amônio já foram relatados em Dálmatas e *Bulldog* inglês, sendo característicos destas raças, pelo que não têm significado clínico se em pequenas quantidades e os de cistina podem aparecer por defeito no transporte de aminoácidos no TCP (Alleman & Wamsley, 2017). A formação de cristais também surgir no seguimento de administração de medicamentos como as sulfamidas, ampicilina, ciprofloxacina, alopurinol (cristais de xantina), agentes de contraste radiográfico, entre outros (Alleman & Wamsley, 2017; Sink & Weinstein, 2012).

Por fim, também podem surgir cilindros no sedimento urinário (cilindrúria). Estes têm a forma cilíndrica com lados paralelos, o mesmo diâmetro em todo o seu comprimento e são constituídos por tampões proteináceos (mucoproteínas) moldados a partir das estruturas

interiores do lúmen tubular que se acumulam nas porções mais distais do nefrônio (cilindros hialinos), e por quaisquer elementos presentes nos túbulos renais que se consigam incorporar na sua matriz (como por exemplo células, lípidos, hemoglobina e bilirrubina) (Alleman & Wamsley, 2017; Sink & Weinstein, 2012). O aumento da concentração, diminuição do pH, presença de uma matriz proteica e estase do fluido tubular podem então contribuir para a formação destes cilindros (Sink & Weinstein, 2012). Por outro lado, os cilindros hialinos raramente são encontrados em cães clinicamente saudáveis (<2 por campo de alta ampliação) (Alleman & Wamsley, 2017). Já os cilindros celulares podem então ser epiteliais (compostos por células epiteliais tubulares renais, sugerindo necrose tubular aguda devido a necrose, toxicidade, inflamação grave, hipoperfusão ou hipoxémia), leucocitários (indicam inflamação tubulointersticial renal ativa) ou eritrocitários (sugerem hemorragia no interior do nefrônio), caso as células presentes consigam ser diferenciadas (Alleman & Wamsley, 2017; Sink & Weinstein, 2012). Dentro da matriz proteica, as células começam progressivamente a degenerar podendo dar origem a remanescentes celulares granulares (cilindros granulados) e, em última instância, a um produto final ceroso (rico em colesterol), os cilindros cerosos (podendo indicar uma lesão tubular crônica). Assim, quando presente, o tipo de conversão pode dar informações adicionais (Alleman & Wamsley, 2017). A quantidade de cilindros presentes não está correlacionada com a gravidade da doença renal ou sua reversibilidade, e a ausência dos mesmos não pode ser usada para excluir doença renal, até porque estes são estruturas frágeis e que degeneram facilmente (Alleman & Wamsley, 2017). Deste modo, quando há um aumento no número de cilindros hialinos ou granulados ou quando outros tipos de cilindros estão presentes, pode-se aferir que um processo patológico ativo grave ou de reversibilidade desconhecida está em curso. A proteinúria (pré-renal ou renal) pode contribuir para a elevação do número de cilindros hialinos (Alleman & Wamsley, 2017).

#### **4.1.2. Tiras reativas de urina para detecção de proteinúria**

O teste colorimétrico da urina com fitas reagentes (tiras de urina) é um teste semi-quantitativo, utilizado frequentemente como primeira linha de triagem de proteinúria / albuminúria, fácil de usar e que fornece resultados imediatos, apresentado geralmente uma sensibilidade razoável (> 80%), mas uma especificidade muito fraca, principalmente no gato (Syme & Jepson, 2017; Vientós-Plotts et al., 2017). Este método depende então da capacidade dos grupos amino das proteínas se ligarem a corantes indicadores (como o azul de tetrabromofenol), que mudam de cor consoante o grau de ligação, que por sua vez depende do número de grupos amino livres existentes nas proteínas. Deste modo, as tiras de urina são normalmente 2 a 3 vezes mais sensíveis na detecção de albumina na urina, uma vez que esta tem mais grupos amino livres quando comparada com as globulinas ou a hemoglobina (Elliot et al., 2017; Grauer, 2011). Por outro lado, apesar da existência de uma variabilidade individual, este teste deteta

proteinúria (reação positiva) quando a concentração de proteínas se encontra acima de 30 mg/dL (limite inferior de detecção) (Elliot et al., 2017; Syme & Jepson, 2017).

Relativamente aos resultados falso-positivos (redução da especificidade), estes ocorrem mais frequentemente em gatos, mas estão relatados em ambas as espécies (Elliot et al., 2017). Estes podem surgir na presença de uma urina alcalina e de um sedimento urinário ativo, nomeadamente na presença de piúria, hematúria (um estudo obteve resultados significativamente maiores para proteinúria em todas as amostras diluídas, principalmente nas amostras com cor rosa claro, rosa escuro e vermelho, quando comparados com a urina não diluída, tendo-se aferido que são necessários cerca de 5 a 20 eritrócitos/ $\mu$ L para causar uma reação positiva) e/ou bacteriúria, bem como em casos em que a urina foi contaminada com amónio quaternário ou em que a tira esteve demasiado tempo em contacto com a urina ou ainda quando a leitura dos resultados não é feita no intervalo de tempo correto (Elliot et al., 2017; Syme & Jepson, 2017; Vientós-Plotts et al., 2017). Já os resultados falso-negativos (redução da sensibilidade) podem ocorrer aquando de uma proteinúria de *Bence Jones*, de uma baixa concentração de albumina na urina e/ou na presença de uma urina diluída ou ácida. Contudo, a interpretação das tiras de urina conjuntamente com a USG tem-se mostrado mais fiável (Elliot et al., 2017). Assim sendo, independentemente da USG, um resultado negativo na urina (0+) pode ser usado com segurança para classificar os cães como não proteinúricos (não havendo necessidade de se proceder a um RPCU) e um resultado de > 100 mg/dL (2+) indica muito provavelmente a existência de proteinúria. Nestes casos a perda de proteína deve ser quantificada pelo RPCU (Elliot et al., 2017). Por outro lado, um resultado de 30 mg/dL (1+) cuja USG seja inferior a 1.012 também refletirá, à partida a existência de proteinúria, recomendando-se igualmente nestes casos o RPCU (Graham, 2017). Quanto maior for a USG para cães com 30 mg/dL de proteína, mais provável será que o cão não apresente proteinúria (Elliot et al., 2017).

Por fim, devido à baixa especificidade das tiras de urina na deteção de proteinúria, diversos laboratórios confirmam as reações positivas com o teste turbidimétrico de ácido sulfosalicílico (SSA), que para além da albumina, também consegue detetar globulinas e proteínas de *Bence Jones* (Elliot et al., 2017; Grauer, 2011). Este teste também é semi-quantitativo e requer a adição de um volume igual de SSA (3 a 5%) à amostra de urina e posterior avaliação subjetiva da turvação da amostra (0 a 4+) (Elliot et al., 2017). Resultados falso-negativos são menos frequentes do que nas tiras de urina (maior sensibilidade) e os falso-positivos podem advir de agentes de contraste radiográfico, penicilinas, cefalosporinas, timol ou sulfisoxazol presentes na urina (Elliot et al., 2017). Quando as tiras de urina e os testes SSA são realizados em simultâneo, os resultados devem ser interpretados em série, ou seja, ambos os testes devem ser positivos para se considerar a amostra positiva, para aumentar a especificidade (Grauer,



2011). Por fim, um teste SSA positivo deve ser seguido de um RPCU (Harley & Langston, 2012).

#### **4.2. Rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU)**

Quando os testes de triagem detetarem proteinúria persistente, ou seja, proteinúria em duas ou três amostras de urina colhidas durante 2 semanas, a perda de proteína pela urina deve ser quantificada para avaliação das lesões renais, da resposta à terapêutica e da progressão da doença (Elliott et al., 2017). O RPCU é um dos meios complementares de diagnóstico mais usados na prática clínica para quantificação da proteinúria, sendo inclusivamente utilizado pelo Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (ACVIM) e pela Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) para recomendações relativas à interpretação clínica da proteinúria renal, bem como avaliação da eficácia do tratamento (Moyle et al., 2018). Este método apresenta uma forte correlação com a excreção de proteína na urina em 24 horas (método de eleição), técnica que exige instalações específicas que normalmente não existem nas clínicas (Elliott et al., 2017; Moyle et al., 2018). Como já foi mencionado anteriormente, a produção de creatinina é constante e esta é livremente filtrada ao nível glomerular, não havendo secreção ou reabsorção considerável pelos túbulos renais, o que se reflete numa quantidade estável de creatinina excretada diariamente, pelo que a sua concentração varia proporcionalmente com o volume de urina (Elliott et al., 2017). Por outro lado, a quantidade de proteína excretada na urina num dia é pouco variável, mesmo na presença de alterações glomerulares ou tubulares, sendo a sua concentração na urina também maioritariamente influenciada pelo volume de urina (Elliott et al., 2017). A obtenção do RPCU é então feita pela divisão da concentração de proteína na urina (mg/dL) pela concentração de creatinina na urina (mg/dL), sendo assim minimizado o efeito da oscilação do volume da urina na concentração de proteína urinária (Elliott et al., 2017). Para determinar o RPCU, recomenda-se que a colheita de urina seja feita após um período de confinamento (durante a noite) para que o volume de urina seja o maior possível (Elliott et al., 2017).

Os métodos turbidimétricos, como o método do cloreto de benzetónio e os ensaios de ligação de corante que utilizam corantes como o molibdato vermelho de pirogalhol (PRM) e o azul brilhante de *Coomassie* (CBB) são frequentemente usados para a determinação do RPCU. Os ensaios de ligação de corante têm uma maior sensibilidade quando comparados com os métodos turbidimétricos, sendo simples e fáceis de usar (Iijima et al., 2003; Rossi, Bertazzolo, Binnella, Scarpa & Paltrinieri, 2016).

Os valores normais para o RPCU canino já foram mais elevados ( $<1,0$ ), tendo sido recentemente reduzidos. Grande parte dos estudos revelou que a excreção normal de proteínas na urina no cão é de aproximadamente 10 mg/kg/24h e que um RPCU normal é inferior a 0,2 (sem proteinúria), enquanto valores entre 0,2 e 0,5 correspondem a uma

proteinúria limítrofe (*borderline*) e valores superiores a 0,5 já são considerados anormais (proteinúria) (tabela 7) (Lees, et al., 2005). Os cães com proteinúria limítrofe devem repetir o RPCU 2 meses depois (Polzin, 2017a). A não ser que o valor do RPCU seja marcadamente elevado ou inferior a 0,2, recomenda-se a repetição do rácio 2 a 3 vezes durante pelo menos 2 semanas (Polzin, 2017a). Por outro lado, o  $\text{RPCU} \geq 0,2$  no cão tem uma elevada especificidade (98,6%) e uma sensibilidade de 47,9% para deteção de microalbuminúria ( $> 1 \text{ mg/dL}$ ), enquanto o  $\text{RPCU} \geq 0,5$  tem uma especificidade de 99,7% e uma sensibilidade de 28,7% para a deteção de microalbuminúria (Grauer, 2011; Syme & Jepson, 2017).

**Tabela 7:** Interpretação do rácio proteína-creatinina urinário (RPCU) canino com base nas recomendações da Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) (Elliott, Grauer & Roura, 2017).

RPCU	Interpretação
<0,2	Normal (sem proteinúria)
0,2-0,5	Proteinúria <i>borderline</i>
>0,5 e <1	Proteinúria ligeira a moderada
>1	Proteinúria grave

Antes de se medir o RPCU, recomenda-se a realização de uma urina tipo II e cultura urinária para se excluírem causas pós-renais, como infeção, hemorragia ou inflamação. Deste modo, o sedimento urinário deve estar normal (inativo) antes de se proceder à determinação do RPCU, uma vez que uma amostra de urina com sedimento ativo tem normalmente uma maior quantidade de proteínas, devido à libertação de proteínas plasmáticas decorrentes da rutura celular e/ou à presença de proteínas inflamatórias (Elliott et al., 2017; Polzin, 2017a; Rossi et al., 2016). Contudo, ao contrário do esperado, Rossi et al. (2010, 2016) realizaram trabalhos que demonstraram as mesmas diferenças significativas nos valores de RPCU em amostras com sedimentos ativos e inativos.

Relativamente aos fatores que podem influenciar o RPCU, estudos recentes demonstraram uma forte correlação entre amostras de urina colhidas livremente (frequentemente contaminadas com células, bactérias, detritos localizados no trato genital ou na pele e cabelos) ou por cistocentese, na presença de um sedimento inativo, sendo baixa a diferença absoluta média dos valores do RPCU entre os dois métodos (Marynissen et al., 2016a; Rossi et al., 2016). Contudo, esta reduzida diferença pode advir do fato da maior parte dos animais não ter uma proteinúria grave, supondo-se então que para valores mais elevados de RPCU esta diferença absoluta média seria mais alta (Marynissen et al., 2016a). Apenas em cerca de 13% dos casos os animais tiveram uma classificação diferente e em todos eles os valores de RPCU estavam próximos dos valores limiares de decisão, pelo que nestes casos os valores

devem ser interpretados com cuidado para não haver uma classificação errônea dos cães relativamente à proteinúria (Marynissen et al., 2016a).

Entretanto, outro estudo revelou uma diferença significativa nos valores de RPCU entre amostras de urina obtidas em casa e amostras obtidas em ambiente hospitalar em cães proteinúricos ( $\text{RPCU} > 0,5$ ), tendo a urina obtida no hospital, na maior parte dos casos, RPCUs superiores. Pensa-se que oscilações na epinefrina, cortisol, PAS, entre outras causas fisiológicas relacionadas com o stress (à partida maior em meio hospitalar) podem afetar temporariamente a TFG em ambiente hospitalar, o que se refletiria em RPCUs maiores, contudo estes fatores não foram mensurados. Em animais com  $\text{RPCUs} < 0,5$  não houve evidência de diferença significativa entre os dois locais de colheita. No entanto, poderá ter ocorrido algum grau de ligação ou desnaturação de proteínas nos recipientes utilizados para as amostras caseiras, que levaria consequentemente a RPCUs menores (Duffy et al., 2015).

No que diz respeito à influência da presença de sangue na urina nos valores do RPCU, alguns estudos mais antigos concluíram que o RPCU no cão não é afetado pela presença de sangue até que haja uma hematúria macroscópica (Bagley et al., 1991; Vaden et al., 2004). Contudo, Vientós-Plotts et al. (2017) conduziram um estudo que sugeriu que mesmo antes da amostra de urina se tornar visivelmente hematúrica, o RPCU pode aumentar significativamente, até porque a classificação da proteinúria foi significativamente diferente em amostras apenas com hematúria microscópica. Assim, generalizando, amostras de urina com mais de 250 eritrócitos por campo de maior ampliação (hpf) podem ser erradamente diagnosticadas de proteinúria (Vientós-Plotts et al., 2017). Por outro lado, o efeito da piúria é provavelmente mínimo na generalidade dos animais (Syme & Jepson, 2017).

Outro fator a ter em consideração é o armazenamento das amostras de urina, nomeadamente os materiais dos recipientes (polipropileno homopolímero (HP), copolímero de propileno (PC) ou vidro), como também a temperatura e tempo de armazenamento (Moyle et al., 2018). Neste sentido foi desenvolvido um estudo de onde se concluiu que as amostras de urina podem à partida ser colhidas e armazenadas em recipientes limpos de HP, PC ou vidro a 24°C até 4 horas, 4°C até 12 horas e -20°C até 72 horas sem causar alterações clinicamente relevantes nos valores de RPCU. Porém, no armazenamento da urina a 4°C por mais de 12 horas, deve-se interpretar o RPCU com cuidado, uma vez que este estudo mostrou um aumento do rácio nestes casos (Moyle et al., 2018).

Também se considerou que variabilidade interlaboratorial pode afetar o RPCU, muito provavelmente devido à utilização de métodos e instrumentos diferentes (Rossi et al., 2015). Um estudo demonstrou que utilizando o CBB há uma subestimação da concentração de proteínas na urina quando comparado com o PRM, fato que foi atribuído à aderência do complexo CBB-proteína aos tubos de ensaio (uma das desvantagens do método) (Iijima et

al., 2003). No entanto, um trabalho mais recente, onde os autores reduziram essa aderência (diminuíram o volume do CBB usado e utilizaram tubos de termoplástico em vez de vidro) revelou que tanto a concentração de proteínas na urina como o RPCU determinados pelo CBB foram significativamente maiores do que os resultados obtidos com o PRM (correlação moderada entre os dois métodos) (Rossi et al., 2016). Estes resultados sugerem que nas amostras de urina canina existem proteínas que reagem de forma diferente com os 2 corantes, porém recomenda-se que se estude a reação entre estes reagentes e proteínas purificadas para se perceber melhor o mecanismo (Rossi et al., 2016). Além disto, também se demonstrou que a variabilidade existente entre os dois métodos pode influenciar o subestadiamento IRIS da DRC (concordância moderada). Por outro lado, Rossi et al. (2015), num estudo com base em 3 laboratórios diferentes inferiram que há uma variabilidade entre laboratórios nos valores do RPCU, mas ainda assim a probabilidade de identificar proteinúria num cão, de acordo com a diretriz da IRIS não foi influenciada pelo laboratório, havendo uma concordância muito boa na classificação de cães proteinúricos (Rossi et al., 2015). Apesar disto, a variabilidade interlaboratorial pode influenciar a estimativa da magnitude da proteinúria e a monitorização do paciente (Rossi et al., 2015). Deste modo, a interpretação do RPCU e das diretrizes da IRIS também se devem basear no método usado, particularmente quando se pretende monitorizar a resposta ao tratamento, já que, por exemplo, a mudança de PRM para CBB pode ser interpretado como se o animal não estivesse a responder bem a terapêutica, quando poderia ser apenas o resultado da sobrestimação do CBB (Rossi et al., 2016).

Como já foi referido, a quantidade de proteína excretada na urina num dia é pouco variável, porém uma variabilidade individual diária apreciável foi identificada num estudo feito em cães com nefropatia hereditária ligada ao cromossoma X, tendo-se aferido que o RPCU tem de se alterar em 35% para cães com RPCUs  $\approx 12$  e em 80% para cães com RPCU  $\approx 0,5$  para que isso reflita uma alteração verdadeira, sem ser devida à variabilidade diária (Elliott et al., 2017; Nabity, Boggess, Kashtan & Lees, 2007). Esta variabilidade deve ser tida em conta principalmente quando se pretende fazer o subestadiamento da DRC, quando se usa o RPCU como um indicador de progressão da DRC ou para avaliar a resposta da proteinúria renal à terapêutica (Elliott et al., 2017).

Quando os valores de RPCU são inferiores a 2, recomenda-se várias determinações do mesmo para averiguar a presença de uma proteinúria persistente e estabelecer a probabilidade de uma doença glomerular intrínseca (IRIS, 2013). Por outro lado, quando a proteinúria é de alto nível, a variabilidade diária nos valores do RPCU obtidos também aumenta, tornando-se necessário calcular durante vários dias a média dos valores obtidos de forma a se conseguir uma estimativa o mais perto da realidade possível. Alternativamente pode-se misturar volumes iguais das várias amostras e determinar o RPCU para a mistura (IRIS, 2013). LeVine, Zhang, Harris & Vaden (2010) também concluíram anteriormente que a

medição do RPCU desta forma é uma alternativa fiável e económica, quando comparada com a média dos valores obtidos em medições seriadas. Já Syme & Jepson (2017) consideram que uma amostra pode ser suficiente para avaliação do RPCU em cães com valores inferiores a 4, mas para animais com valores superiores a 4 mais de 2 amostras devem ser colhidas de forma a se obter uma representação verdadeira da magnitude da proteinúria. No entanto, quanto mais alto for o RPCU numa única amostra, mais autêntico será o diagnóstico de proteinúria (Elliott et al., 2017).

Também é importante ter em consideração que a maioria das máquinas utilizadas na determinação do RPCU é calibrada para plasma, onde a concentração de proteínas é 500 a 1000 vezes superior do que na urina, pelo que podem ocorrer contaminações cruzadas da urina com plasma da amostra anterior. Além disso, a concentração de creatinina na urina é 25 a 100 vezes maior do que no plasma, tornando-se imprescindível diluir bastante as amostras de urina até que a concentração de creatinina consiga ser lida corretamente pela máquina (Elliott et al., 2017).

Outro aspeto a ter em consideração é o fato da concentração de creatinina na urina estar diretamente correlacionada com a USG, podendo esta ter uma enorme variabilidade analítica numa urina com uma USG baixa. Assim sendo, a interpretação do RPCU deve ter sempre em consideração o valor da USG (Rossi et al., 2010).

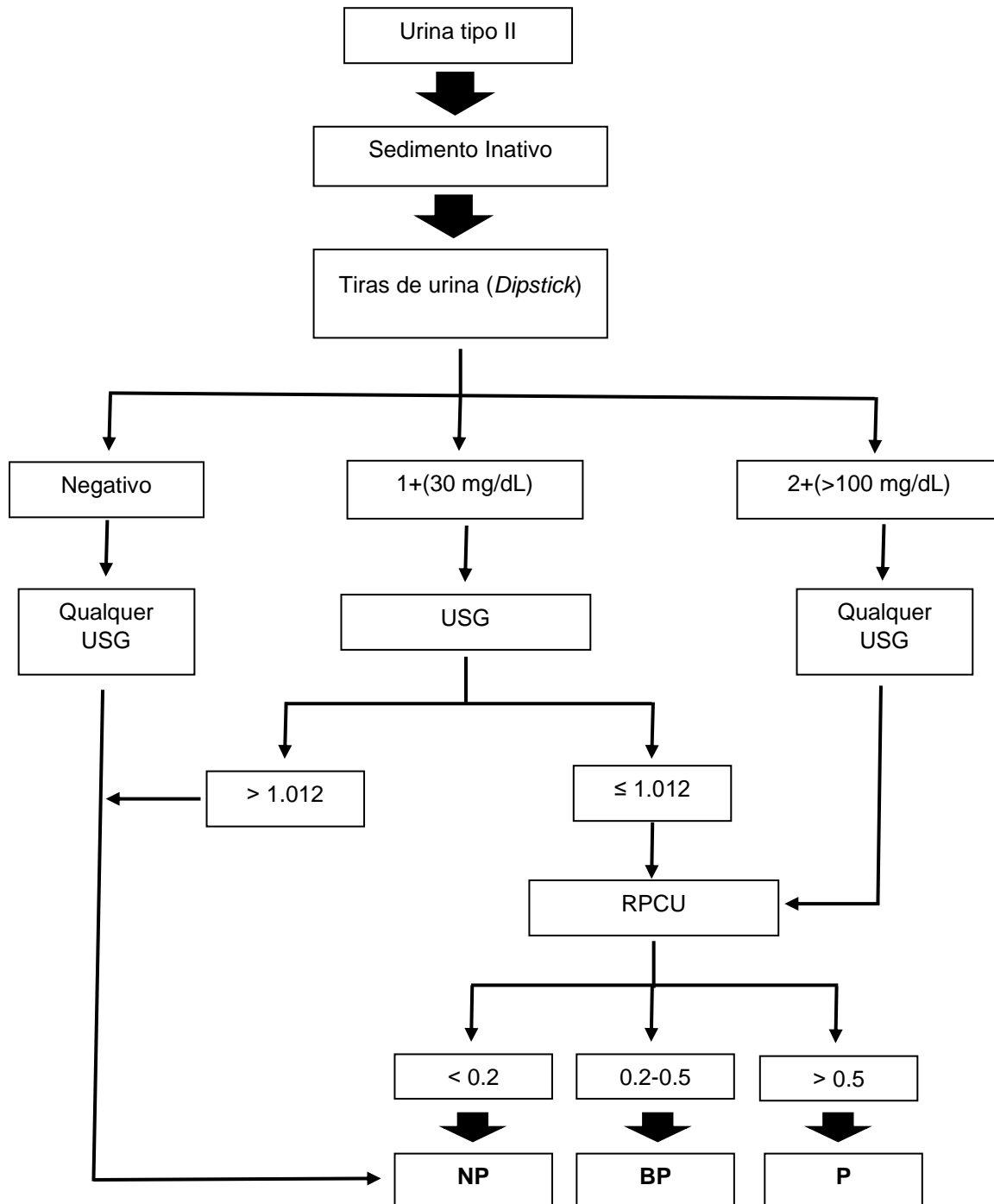
#### **4.3. Decisão diagnóstica da proteinúria**

No que diz respeito à abordagem diagnóstica da proteinúria, deve-se tentar localizar a origem da proteinúria, estabelecer a sua persistência e magnitude, bem como avaliar a sua variação no tempo, existindo diversas recomendações de vários autores, como por exemplo Elliott et al. (2017) que delinearam um fluxograma de diagnóstico baseado no sedimento urinário, USG, proteinúria (tiras de urina) e RPCU (figura 3) (Duffy, 2015). Neste fluxograma recomenda-se a quantificação da proteinúria com RPCU de todas as tiras de urina iguais ou superiores a “++” e de todos os resultados “+” cuja USG seja inferior a 1.012 (Elliott et al., 2017; Lees et al., 2005).

Para se averiguar se a proteinúria é persistente, devem-se repetir os de deteção de proteinúria pelo menos 3 vezes, com 2 ou mais semanas de intervalo, tendo em conta a variabilidade da excreção de proteínas ao longo do dia (Lees et al., 2005). Já a avaliação da localização da proteinúria inclui normalmente a anamnese, exame físico, análise de urina tipo II e por vezes urocultura, como também medição das proteínas plasmáticas (Lees et al., 2005). Deste modo, de acordo com Lees et al. (2005) a localização da origem da proteinúria deve basear-se nas seguintes etapas: (1) excluir causas pós-renais não urinárias ao colher a amostra de urina por cistocentese; (2) descartar proteinúria pré-renal (disproteinémia) através da medição das proteínas plasmáticas totais; (3) eliminar causas pós-renais urinárias (como inflamação ou

hemorragia) a partir da análise do sedimento urinário e de sinais clínicos de inflamação do trato urinário (como polaquiúria, mas sem sinais clínicos evidentes de nefrite) e (4) excluir a existência de uma proteinúria renal patológica intersticial, procurando sinais clínicos de nefrite, tais como dor renal, febre, insuficiência renal. Nesta fase, não existindo evidência de uma disproteinemia ou de inflamação ou hemorragia no sedimento urinário, trata-se então de uma proteinúria de origem renal. Se a proteinúria for de alto nível ( $\text{RPCU} > 2$ ), à partida será de origem glomerular (Lees et al., 2005). Por outro lado, caso o  $\text{RPCU}$  seja inferior a 2, se a proteinúria for persistente também pode ser uma proteinúria glomerular (de baixo grau), no entanto também poderá ter uma origem tubular, igualmente caracterizada por ser uma proteinúria leve e persistente, sendo, em alguns casos acompanhada por glicosúria sem hiperglicémia e/ou alterações na excreção de eletrólitos. Por fim, se a proteinúria for de baixa magnitude e transitória, a proteinúria será renal fisiológica (Lees et al., 2005).

**Figura 3:** Fluxograma para o diagnóstico de proteinúria no cão. NP: não proteinúria; BP: proteinúria *borderline*; P: proteinúria; USG: densidade urinária; RPCU: rácio de proteína-creatinina urinário (Elliott, Grauer & Roura, 2017).



### **III. ESTUDO RETROSPECTIVO DE PROTEINÚRIA CANINA QUANTIFICADA PELO RÁCIO PROTEÍNA-CREATININA URINÁRIO**

#### **1. Introdução**

A proteinúria surge quando a função renal está comprometida ao nível glomerular e/ou tubular e/ou quando há inflamação do parênquima renal, como também pode ocorrer secundariamente a um maior número de proteínas plasmáticas em circulação (proteinúria pré-renal) ou a afeções génito-urinárias (proteinúria pós-renal) (Elliott et al., 2017; Graham, 2017; Grauer, 2011; Harley & Langston, 2012). Contudo, a proteinúria no cão é frequentemente associada a doenças glomerulares, sendo geralmente maior nessas doenças devido ao comprometimento da barreira de filtração glomerular (Elliott et al., 2017; Harley & Langston, 2012; Vaden, 2017). Deste modo, como a proteinúria pode estar associada a diversas causas (pré-renais, renais e pós-renais) e tendo em conta que muitos animais com alterações renais podem não desenvolver quaisquer sinais clínicos ou estes serem subtis (podendo não ser detetados pelos tutores), se um teste de triagem for positivo para proteinúria é importante quantificá-la através do RPCU (método mais utilizado atualmente) e determinar a sua origem (Elliott et al., 2017; Vaden, 2017). Deste modo, torna-se bastante relevante saber quais as doenças mais prevalentes nos cães proteinúricos, sobretudo na área epidemiológica em questão ou caso os animais apresentem um historial de viagens intra e inter-comunitárias nas respetivas regiões. Por outro lado, a urianálise é um exame complementar de diagnóstico extremamente informativo e que é rotineiramente efetuado nas consultas de medicina geral e medicina interna (Alleman & Wamsley, 2017).

Assim, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar as principais causas de proteinúria nos cães da região de Lisboa, que se apresentaram ao HEV-FMV.

Numa segunda fase, apurou-se também se os casos do presente estudo estavam em consonância com as diretrizes recomendadas por Elliot et al. (2017) na abordagem diagnóstica da proteinúria canina, esquematizadas na figura 3.

#### **2. Materiais e Métodos**

##### **2.1. Amostra populacional**

A amostra do presente estudo foi apurada com base em registos clínicos e corresponde a todos os cães apresentados no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV) entre janeiro de 2017 e dezembro de 2018 que foram identificados com proteinúria significativa através do rácio proteína-creatinina urinário (RPCU > 0,5) e com um diagnóstico primário estabelecido. Todos os casos cujo diagnóstico não foi aferido ou era duvidoso foram excluídos, bem como aqueles que apresentavam mais do que



2 doenças concomitantes, que podiam levar a proteinúria, pois nestes casos tornava-se difícil perceber qual delas contribuía mais para a proteinúria existente. Deste modo, 106 cães foram selecionados. Os dados recolhidos incluíram raça; idade; sexo; método de colheita da urina; valor do RPCU (figura 4); análise de urina tipo II e por fim o diagnóstico. Posteriormente, todos os casos foram classificados de acordo com a origem da proteinúria, em pré-renal, renal, pós-renal e mista, tendo sido também divididos nos seguintes grupos: diagnóstico provável de glomerulonefrite secundária a doenças transmitidas por vetores (VBD); DRC; doenças sistémicas que possivelmente induzem um comprometimento da permeabilidade seletiva glomerular (broncopneumonia, enteropatias, doença hepática, HAC, DM ou neoplasia) e insuficiência renal aguda (IRA).

Para se determinar se os casos do presente estudo estavam em concordância com o fluxograma de diagnóstico delineado por Elliot et al. (2017) (figura 3), que se baseia na interpretação conjunta do sedimento urinário, USG e proteinúria (tiras de urina) na predição de RPCU significativo, foi decidido utilizar-se todos os animais que, entre janeiro de 2017 e dezembro de 2018, realizaram concomitantemente RPCU e urianálise (USG e proteinúria), independentemente de serem ou não proteinúricos. Para este fim em particular, a amostra perfeitou um total de 174 cães.

## **2.2. Método de colheita de urina**

Como já foi mencionado, de acordo com Marynissen et al. (2016a) e Rossi et al. (2016) existe uma forte correlação entre amostras de urina colhidas livremente ou por cistocentese, sendo baixa a diferença absoluta média dos valores do RPCU entre os dois métodos, motivo pelo qual se optou por incluir todos os animais (que preenchiam os requisitos de inclusão) independentemente do método de colheita de urina utilizado.

## **2.3. Parâmetros analisados na Urina tipo II**

Dentro dos parâmetros avaliados deu-se particular relevância à USG, proteinúria e análise microscópica do sedimento urinário. A interpretação da USG, tendo em conta a idade do paciente, estado de hidratação, concentrações séricas de ureia e creatinina, entre outros, dá-nos informações úteis relativamente à capacidade de concentração renal e foi determinada, neste estudo, por refratometria. Já a proteinúria (análise semi-quantitativa) foi apurada pelas tiras reativas de urina (*dipstick*). Por outro lado, o sedimento urinário foi classificado em ativo, cristalúria, cilindrúria e inativo. Considerou-se um sedimento ativo nos seguintes casos: (1) mais de 3 leucócitos/hpf quando por cistocentese ou mais de 8 leucócitos/hpf se a urina tiver sido colhida por algaliação ou livremente; (2) mais de 5 eritrócitos/hpf e (3) presença de microbiota. A classificação em cristalúria e cilindrúria foi feita quando havia presença de cristais e cilindros, respetivamente, sem outras alterações no sedimento urinário. Por fim, o sedimento inativo corresponde aos casos em que havia menos do que 3 leucócitos/hpf

(cistocentese) ou menos de 8 leucócitos/hpf (algaliação ou colheita livre), menos de 5 eritrócitos/hpf e sem quaisquer outras alterações.

## 2.4. Metodologia RPCU

Após a colheita de urina e respeitando os tempos e temperaturas de armazenamento da mesma, a amostra foi centrifugada (imagem 1). De seguida foi-lhe adicionada o reagente PRM, foram inseridos os dados dos pacientes no sistema e por fim foi feita a medição das concentrações de proteínas totais e da creatinina urinárias para se calcular o valor do RPCU, recorrendo-se a um autoanalisador (*Daytona*) (imagem 2).

**Imagem 1:** Pipetagem e centrifugação da amostra de urina.



**Imagem 2:** Reagente PRM e autoanalisador (*Daytona*).



## 2.5. Meios complementares de diagnóstico utilizados para deteção das VBD

Quando efetuado o rastreio de VBD, este foi feito recorrendo-se a testes rápidos, kits de ELISA e serologia. Para a deteção de *Leishmania infantum* foi feito o *LEISCAN*® em todos os casos, enquanto a *Ehrlichia* spp. e o *Anaplasma* spp. foram detetados através do teste *SNAP-4DX Plus*. A dirofilariose foi diagnosticada através do teste *SNAP-4DX Plus* (1/3), *WITNESS*® *Dirofilaria* (1/3) e *Knott's Heartworm Test* (1/3), enquanto a *Rickettsia* spp foi identificada, em 100% dos casos, por serologia. Já a *Borrelia burgdorferi* foi detetada em 50 % dos casos pelo teste *SNAP-4DX Plus* e nos outros 50% por serologia (IgG e IgM). Relativamente à *Babesia canis* não foi possível aferir exatamente quais os meios de diagnóstico utilizados. Contudo no HEV-FMV a *Babesia canis* é normalmente identificada por serologia, PCR ou esfregaço sanguíneo.

**Imagem 3:**  
Teste *SNAP-4DX Plus*



O *LEISCAN*® corresponde a um teste de ELISA para deteção de anticorpos anti-leishmania e o *SNAP-4DX Plus* (imagem 3) baseia-se num teste de ELISA, que deteta antígenos da *Dirofilaria immitis* e anticorpos contra a *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* e *Ehrlichia ewingii*.

## 2.6. Análise estatística

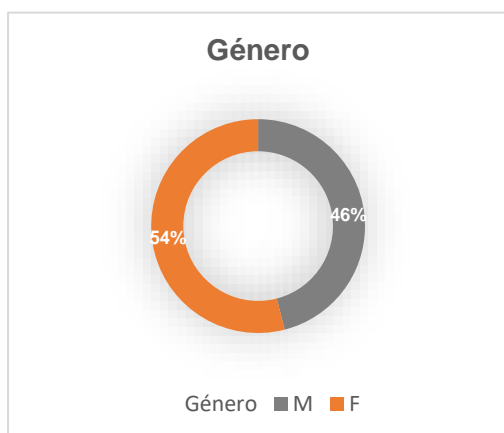
Os dados referentes a este estudo, nomeadamente a história clínica e exames realizados foram recolhidos do *Guruvet* (software utilizado pelo HEV-FMV), tendo sido posteriormente organizados numa base de dados com recurso ao software *Microsoft Office Excel®*. Após os critérios de inclusão e exclusão terem sido aplicados, obteve-se uma base de dados final, com apenas os dados referentes aos cães proteinúricos que tinham um diagnóstico primário apurado. A análise estatística dos dados consistiu, numa primeira fase, numa análise estatística meramente descritiva, que permitiu a caracterização da amostra populacional, calcular a prevalência das várias doenças nos cães proteinúricos que se apresentaram ao HEV-FMV, bem como calcular as médias, medianas, máximos, mínimos e desvios-padrão dos valores de RPCU por tipo de proteinúria (pré-renal, renal, pós-renal e renal + pós-renal) e por faixa etária (< 5 anos; 5-7 anos e >7 anos). Numa segunda fase, foram avaliadas as diretrizes sugeridas por Elliot et al. (2017) na abordagem diagnóstica do cão proteinúrico.

## 3. Resultados

### 3.1. Caraterização da amostra populacional

No total foram incluídos no estudo os dados referentes a 106 cães. Destes, 54% eram fêmeas e 46% machos (gráfico 1), com uma média de 9,5 anos (variando entre 0,83 e 16 anos) (tabela 8). Foram identificadas cerca de 40 raças neste estudo, em que os animais de raça indeterminada foram os mais frequentes (24%), seguidos das raças Labrador *Retriever* (16%), Pastor Alemão (5%), *Beagle* (4%), entre outras (menos frequentes). 8% dos animais não tinham informação relativa à raça.

**Gráfico 1:** Distribuição do Género na amostra total.



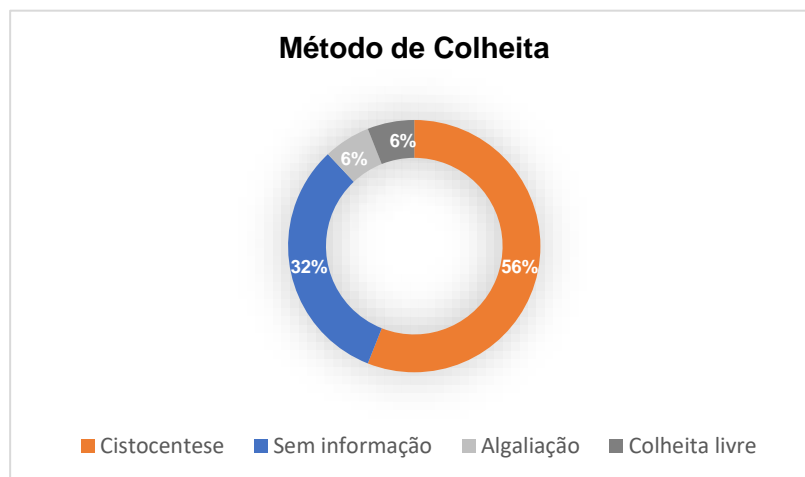
**Tabela 8:** Análise estatística da idade na amostra total.

Parâmetros Estatísticos	Idade (anos)
Média	9,5
Mediana	9,5
Mínimo	0,83
Máximo	16
Desvio Padrão	3,5
Moda	12

### 3.2. Método de colheita de urina

Relativamente ao método de colheita de urina, 56% dos casos foi por cistocentese, 6% por colheita livre, 6% por algaliação e os restantes 32% não havia informação (gráfico 3).

**Gráfico 3:** Distribuição do método de colheita na amostra

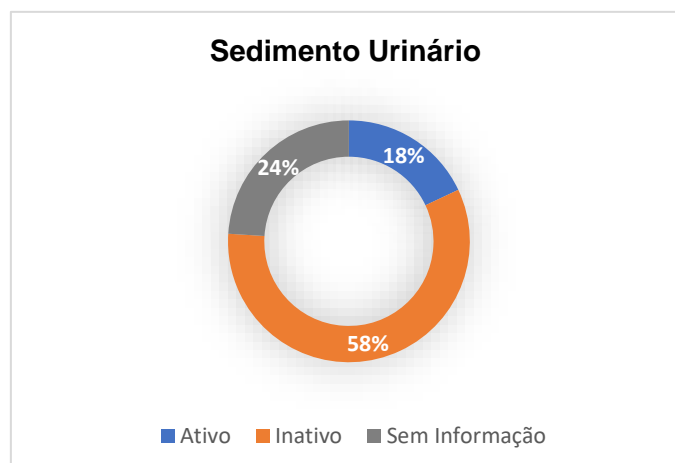


### 3.3. Urina tipo II

Da amostra inicial (n=106), 81 cães realizaram concomitantemente uma análise de urina tipo II, o que corresponde a cerca de 76% dos casos.

Deste modo, no presente estudo 58% (62/106) dos cães apresentaram um sedimento inativo ou cristalúria ou cilindrúria, 24% (25/106) não tinham informação (não fizeram urina tipo II) e 18% (19/106) tinham um sedimento ativo (gráfico 2). Dos animais com sedimento ativo, 63% (12/19) apresentavam leishmaniose, 26% (5/19) ITU e/ou cistite, 16% (3/19) DRC; 10% (2/19) doenças que possivelmente induzem um comprometimento da permeabilidade seletiva glomerular (em particular DM e neoplasia renal) e 5% (1/19) apresentavam IRA.

**Gráfico 2:** Distribuição do sedimento urinário ativo e inativo/cilindrúria/cristalúria na amostra total.



### 3.4. Classificação da proteinúria

Todos os casos selecionados foram posteriormente classificados de acordo com a origem da proteinúria, em pré-renal, renal, pós-renal e mista, tendo sido também divididos nos seguintes grupos: glomerulonefrite secundária a doenças transmitidas por vetores (VBD) (diagnóstico presuntivo), DRC, doenças sistêmicas que possivelmente induzem um comprometimento da permeabilidade seletiva glomerular (broncopneumonia, enteropatias, doença hepática, HAC, DM ou neoplasia) e insuficiência renal aguda (IRA).

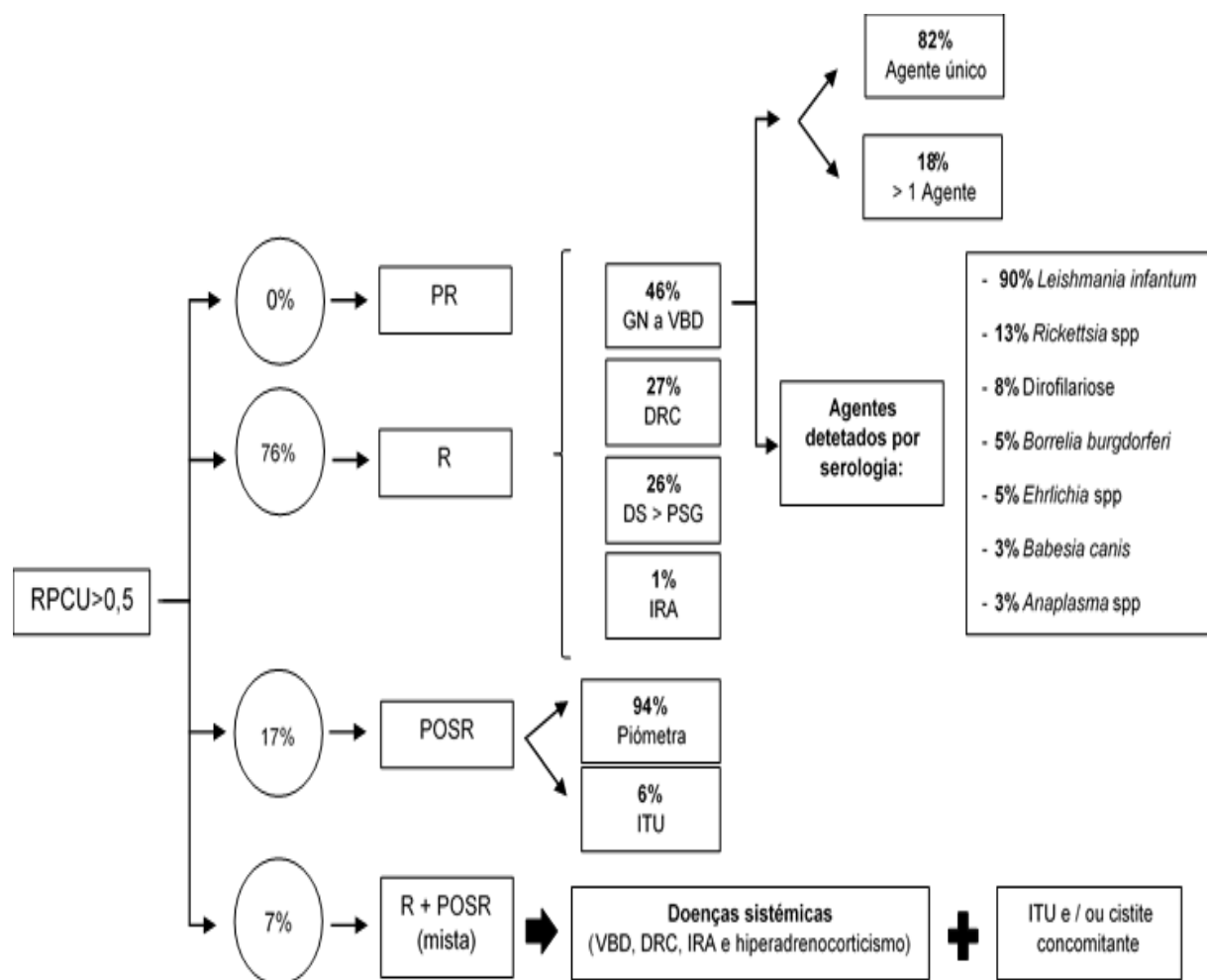
Dos 106 cães incluídos no presente estudo, nenhum apresentou proteinúria pré-renal, 76% apresentaram proteinúria renal, 17% tinham proteinúria pós-renal e em 7% dos casos suspeitou-se de uma origem mista de proteinúria (renal + pós-renal). Dos animais com proteinúria renal, 46% tiveram diagnóstico presuntivo de glomerulonefrite secundária a VBD; 27% apresentaram DRC; 26% revelaram doenças sistêmicas que possivelmente induzem um comprometimento da permeabilidade seletiva glomerular e 1% apresentaram IRA.

A proteinúria pós-renal incluiu cães com piômetra e infecção do trato urinário (ITU). A proteinúria mista foi considerada em cães com doenças sistêmicas (VBD, DRC, IRA e hiperadrenocorticism) e uma ITU e / ou cistite concomitante.

### 3.5. Agentes detetados por serologia

Os cães com o diagnóstico presuntivo de VBD corresponderam a 35% da amostra total e a 46% dos cães com proteinúria de origem renal. Destes, 82% apresentaram serologia positiva para um único agente, enquanto 18% foram positivos para mais de um agente, com as seguintes combinações: leishmaniose + babesiose + rickettsiose; rickettsiose + dirofilariose; dirofilariose + leishmaniose + rickettsiose; leishmaniose + rickettsiose; leishmaniose + erlichiose + borreliose; rickettsiose + borreliose e erlichiose + anaplasmose. 90% foram positivos para *Leishmania infantum*, 13% *Rickettsia* spp, 8% dirofilariose, 5% *Borrelia burgdorferi*, 5% *Ehrlichia* spp, 3% *Babesia canis* e 3% *Anaplasma* spp (figura 4).

**Figura 4:** Fluxograma para apresentação dos resultados. PR: proteinúria pré-renal; R: proteinúria renal; POSR: proteinúria pós-renal; GN a VBD: glomerulonefrite secundária a doenças transmitidas por vetores; DRC: doença renal crônica; DS>PSG: doenças sistêmicas que podem induzir um comprometimento da permeabilidade seletiva glomerular; IRA: insuficiência renal aguda; ITU: infecção do trato urinário.



### 3.6. Valores dos parâmetros estatísticos do RPCU na proteinúria de origem pré-renal, renal e pós-renal e por faixa etária

Relativamente aos valores do RPCU, foram calculados parâmetros estatísticos (média, mediana, máximo, mínimo e desvio padrão) relativamente à origem da proteinúria (renal, pós-renal e mista) (tabela 9) e à faixa etária (<5 anos, 5-7 anos, >7 anos) (tabela 10). Com estes mesmos dados foram elaborados gráficos de percentis e quadris para melhor interpretação dos resultados (gráficos 4 e 5).

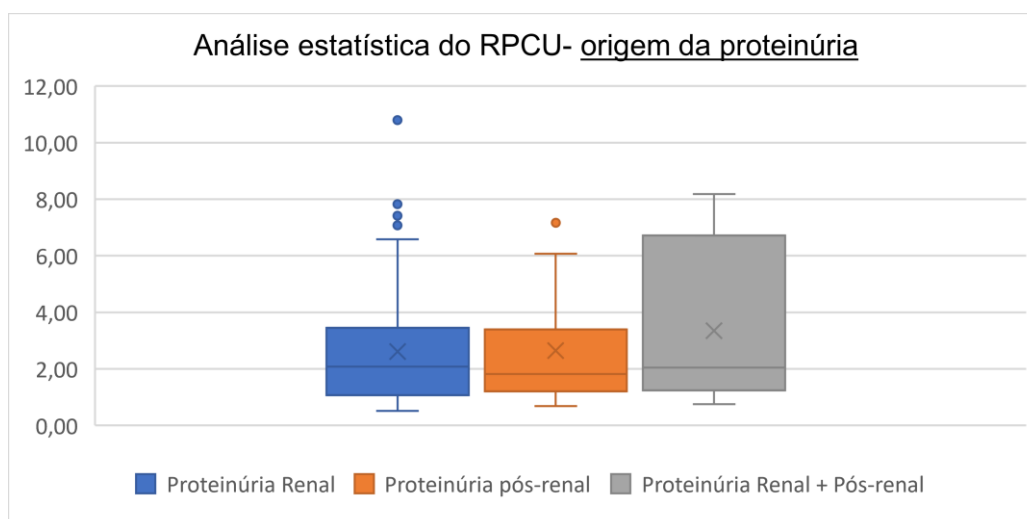
**Tabela 9:** Valores dos parâmetros estatísticos do rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU) relativamente à origem da proteinúria (renal, pós-renal e mista).

Parâmetros Estatísticos RPCU	Proteinúria Renal	Proteinúria Pós-renal	Proteinúria Renal + Pós-renal
<b>Média</b>	2,62	2,64	3,35
<b>Mediana</b>	2,08	1,82	2,04
<b>Máximo</b>	10,80	7,16	8,18
<b>Mínimo</b>	0,51	0,69	0,76
<b>Desvio Padrão</b>	1,98	2,09	2,92

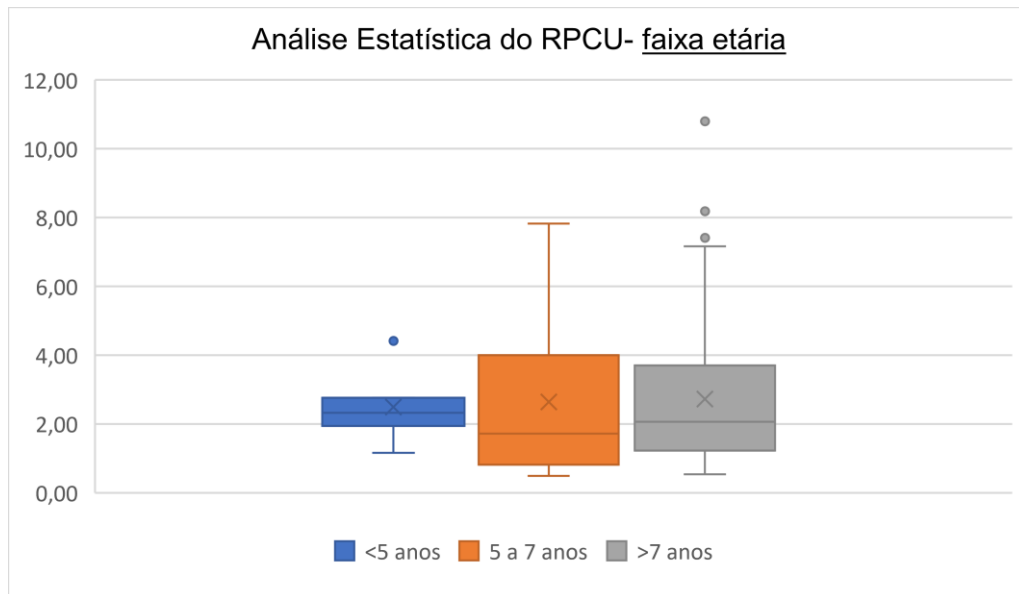
**Tabela 10:** Valores dos parâmetros estatísticos do rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU) por faixa etária.

Parâmetros Estatísticos RPCU	<5 anos	5-7 anos	> 7 anos
<b>Média</b>	2,49	2,64	2,72
<b>Mediana</b>	2,32	1,72	2,07
<b>Máximo</b>	4,41	7,82	10,8
<b>Mínimo</b>	1,16	0,49	0,54
<b>Desvio Padrão</b>	1,00	2,33	2,09

**Gráfico 4:** Análise estatística do rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU) relativamente à origem da proteinúria.



**Gráfico 5:** Análise estatística do rácio de proteína-creatinina urinário (RPCU) por faixa etária.



### 3.7. Avaliação da decisão diagnóstica da proteinúria através da análise de urina tipo II (USG e proteinúria) e RPCU

Dos 174 cães selecionados: (1) 43% apresentavam uma USG qualquer e >100 mg/dL de proteinúria, havendo 92% e 8% de valores de RPCU >0,5 (proteinúricos) e  $\leq 0,5$  (não proteinúricos), respetivamente; (2) 15% tinham a USG > 1,012 e 30 mg/dL de proteinúria, onde 58% eram proteinúricos e 42% não proteinúricos; (3) 1 % mostravam uma USG < 1,012 e 30 mg/dL de proteinúria, tendo todos RPCU >0,5 e (4) 40% apresentavam uma USG qualquer e 0 mg/dL ou indícios de proteinúria, onde 22% tinham RPCU >0,5 e 78% tinham RPCU  $\leq 0,5$ .

## 4. Discussão dos resultados

Este estudo retrospectivo descreve a etiologia da proteinúria em 106 cães, tendo-se dado particular relevância às VBD, que corresponderam a 35% dos casos. Tendo em conta que o HEV-FMV é um hospital de referência em Lisboa com uma elevada casuística, parte-se do pressuposto que a amostra obtida é representativa da região, pelo que os resultados podem ser extrapolados a toda a região. A proteinúria de origem renal é a mais frequente nos cães que se apresentaram ao HEV-FMV (76%), seguida da proteinúria pós-renal (17%), mista (7%) e pré-renal (0%), o que está de acordo com a bibliografia existente, na medida em que as doenças glomerulares, como glomerulonefrite, glomerulosclerose e amiloidose glomerular são as doenças renais mais frequentes no cão e mais comumente associadas a proteinúria.



A comparação dos resultados com estudos anteriores não foi possível, uma vez que não foram encontrados trabalhos que abordassem as prevalências das diversas afeções e/ou doenças em cães proteinúricos, como foi feito no presente estudo. No entanto, na bibliografia existente, a proteinúria já foi descrita nas afeções e/ou doenças aqui abordadas, bem como já foi relatada em cães militares portugueses a seropositividade para anticorpos contra *Rickettsia* spp. (49%), *Anaplasma* spp. (16%), *Leishmania infantum* (13%) e *Ehrlichia canis* (7%) (Alho et al., 2016). No presente trabalho, 90% das VBD corresponderam à *Leishmania infantum*, 13% *Rickettsia* spp, 8% dirofilariose, 5% *Borrelia burgdorferi*, 5% *Ehrlichia* spp, 3% *Babesia canis* e 3% *Anaplasma* spp.. Comparando com o estudo referido, seria esperada a identificação de mais casos de *Rickettsia* spp.. Relativamente à presença de um único agente (82%) *versus* co-infecção com múltiplos agentes (18%), conclui-se que houve menos casos de infeções múltiplas do que no estudo desenvolvido por Alho et al. (2016) (25%). Por outro lado, as VBD foram a principal causa de proteinúria renal neste estudo, já que 35% dos casos corresponderam a VBD e a *Leishmania infantum* foi o agente mais frequentemente identificado na serologia. Estes resultados são relativamente esperados, uma vez que as VBD são altamente prevalentes em Portugal. Esta elevada prevalência das VBD leva à preocupação relativamente à prevenção destas doenças, uma vez que, apesar do aumento das medidas preventivas e de uma maior sensibilização dos donos acerca da sua importância, as VBD continuam com uma prevalência bastante elevada. Assim surgem várias questões: “Será que os médicos veterinários e/ou donos fazem as desparasitações da forma mais eficaz?”; “Será que os fármacos existentes no mercado estão a perder a sua eficácia?”; “Será que os agentes se estão a tornar cada vez mais resistentes?”; “Será que o uso regular dos desparasitantes não pode estar na origem destes problemas?”; “Será que existe uma abordagem mais eficaz para combater este problema?”

Por outro lado, após a deteção de VBD e excluídas as outras causas de proteinúria renal (tendo em conta a apresentação clínica, valor de RPCU, análise de urina tipo II e, em alguns casos, hemograma, análises bioquímicas, entre outros) foi considerado como provável o diagnóstico de glomerulonefrite secundária a VBD (diagnóstico de exclusão), carecendo de um diagnóstico definitivo confirmado por biópsia renal.

A DRC, por sua vez foi a segunda causa de proteinúria de origem renal nesta amostra, com uma prevalência de 27%. Além de poder ser considerado um marcador precoce de DRC, a proteinúria é muito importante nestes animais para subestadiar a doença, bem como monitorizá-la, uma vez que é marcador de progressão da mesma. Porém a proteinúria também pode surgir em doenças endócrinas, como o HAC ou DM. Segundo estudos desenvolvidos por Smets et al. (2010; 2012a), no HAC a proteinúria ocorreu em 44-75% dos cães com HAC e neste trabalho cerca de 4% dos cães proteinúricos tiveram HAC. Já a DM correspondeu a cerca de 2% dos cães proteinúricos, sendo que num estudo mais recente foi

observada a presença de proteinúria em 17,65% dos cães diabéticos (Priyanka et al., 2018). Já a proteinúria de *Bence Jones* surge no MM por produção neoplásica de proteínas M (imunoglobulinas tumorais), e esta, em conjunto com outros fatores, leva a doença renal em 30% a 50% dos casos (Silva et al., 2008; Vail, 2017). Não foi identificado nenhum caso de MM neste estudo.

No que diz respeito à proteinúria pós-renal, à partida seriam esperados mais casos de ITU, já que é uma afeção relativamente frequente no cão. No entanto, o RPCU não é frequentemente utilizado como meio complementar de diagnóstico de ITU. Por outro lado, o elevado número de casos de piómetra não seria expectável, contudo pode ser explicado pelo fato de se ter feito um estudo no HEV-FMV sobre a prevalência de proteinúria em cadelas com piómetra, tendo-se feito assim RPCU a todas as cadelas com piómetra que se apresentaram ao hospital. Por outro lado, nos animais com ITU, a urina foi colhida por cistocentese, o que diminuiria o risco de contaminação da urina com proteínas provenientes do trato urinário distal, pelo que se conclui que a proteinúria pós-renal nestes casos foi subestimada.

No que diz respeito à análise estatística dos valores do RPCU, na proteinúria renal e pós-renal a média foi de 2,62 e 2,64 respetivamente, o que não seria expectável, uma vez que seriam esperados valores médios mais elevados na primeira. No entanto, como a mediana da proteinúria renal (2,08) é maior do que a pós-renal (1,82), conclui-se que há mais animais com valores de RPCU superiores à média na proteinúria de origem renal, o que então já seria esperado. Para além disto, o valor máximo de RPCU encontrava-se na proteinúria renal, o que é um valor esperado, na medida em que a proteinúria renal está normalmente associada a valores mais elevados de RPCU. A média do RPCU na proteinúria mista foi a mais elevada (3,35), fato que pode ser explicado pelo efeito cumulativo da proteinúria renal com a pós-renal. Por outro lado, a média nas 3 faixas etárias (<5 anos; 5-7 anos e >7 anos) foi muito semelhante (2,49; 2,64; 2,72), sendo a faixa etária < 5 anos a que apresentou um valor inferior, o que não era o esperado. Porém, a mediana da faixa etária mais jovem é a mais elevada, existindo então uma maior percentagem de animais com valores de RPCU superiores à média, o que poderá ser explicado pelo fato dos animais mais jovens terem mais frequentemente afeções agudas, que, por sua vez estão normalmente associadas a RPCUs maiores. Relativamente aos valores máximos do RPCU, estes foram observados nas faixas etárias mais velhas, o que poderia ir contra o mencionado, contudo, põe-se a possibilidade destes animais terem doenças crónicas, mais arrastadas no tempo, que levam progressivamente à perda de função renal e depleção de proteínas ou ainda se coloca a hipótese de uma agudização dessas mesmas doenças crónicas.

Outro aspeto a ter em conta é a importância da realização do RPCU na abordagem ao cão geriátrico, tal como evidencia Marynissen et al. (2016a), o que, de alguma forma é corroborado pelo presente estudo, na medida em que a média de idades dos cães proteinúricos foi de 9,5

anos e que cerca de 72% da amostra correspondiam a animais com idade superior ou igual a 8 anos.

Por outro lado, o fato da amostra ser pequena e majoritariamente constituída por cães de raça indeterminada torna difícil avaliar se há alguma predisposição r tica para a proteinúria. Contudo, tendo em conta que a proteinúria renal é a mais frequente no cão e que já estão descritas várias raças que têm predisposição para doenças renais primárias, deve ser sempre feito um rastreio de proteinúria nessas mesmas raças. Exemplos destas doenças incluem: síndrome de *Alport* (*Bull terrier*, Dálmata e Samoiedo), displasia renal juvenil (*Beagle*, *Boxer*, *Cocker spaniel*, Dálmata, *Doberman*, *Golden retriever*, *Schnauzer* miniatura, *Rottweiler*, Samoiedo, *Shih tzu*, *Weimaraner*, entre outros), amiloidose renal (*Beagle*, *Collie*, *English foxhound*, sendo familiar no *Shar pei*), entre diversas outras doenças (Harley & Langston, 2012).

Relativamente aos meios complementares de diagnóstico utilizados, uma possível limitação deste estudo corresponde ao fato de tanto a análise de urina tipo II como o RPCU serem mais sensíveis para a albumina do que para as globulinas, pelo que em alguns casos, como por exemplo mieloma múltiplo, linfoma ou em certos processos inflamatórios, a presença de globulinas na urina pode não ter sido detetada (falso negativo). No entanto, como grande parte da proteinúria está associada a albuminúria, não se considerou que este fator tenha tido uma influência significativa neste estudo. Outros testes poderiam ter sido realizados, nomeadamente o SSA que deteta tanto albumina como globulinas; contudo não se utiliza por rotina na prática clínica em Portugal.

A maior parte das diretrizes que existem relativamente à realização e interpretação do RPCU ditam que as amostras devem ser colhidas por cistocentese e que este só deve ser avaliado aquando de um sedimento inativo. Porém, neste estudo incluíram-se também as amostras colhidas livremente, por algaliação ou que não apresentavam informação sobre o método de colheita, bem como as que apresentavam um sedimento ativo ou não tinham informação acerca do mesmo. A decisão de inclusão dos animais com sedimento ativo foi feita: (1) para se obter uma amostra mais significativa; (2) uma vez que é frequente a requis  o do RPCU sem se saber se o sedimento urinário está ativo (para se evitar novas colheitas de urina ou idas ao hospital); (3) porque Rossi et al. (2010, 2016) relataram as mesmas diferenças significativas nos valores de RPCU em amostras com sedimentos ativos e inativos, o que sugere que a presença de um sedimento urinário ativo pode não influenciar o RPCU tanto como se pensava e (4) porque 26% dos animais com sedimento ativo apresentavam causas p s-renais de proteinúria (ITU e/ou cistite), o que também era do interesse do presente estudo. Já no que diz respeito ao método de colheita, esta decisão foi tomada para se obter uma amostra maior, mas também uma vez que Marynissen et al. (2016a) e Rossi et al. (2016) revelaram uma forte correlação entre amostras de urina colhidas por cistocentese ou

livremente, na presença de um sedimento inativo. Assim sendo, pelo menos nas amostras com sedimento inativo/cilindrúria/cristalúria (58%) colhidas por cistocentese ou livremente, o método de colheita não interferiu com os valores do RPCU. Das amostras colhidas por algaliação, 83% tinham o sedimento inativo e 17% não tinham informação, pelo que à partida também não houve uma interferência significativa nos valores do RPCU nestes casos. Por outro lado, como 84% dos animais com sedimento ativo apresentaram leishmaniose, DRC ou DM, que são muitas vezes complicadas de ITU, também se pôs a hipótese de uma parte destes animais ter uma ITU subclínica, o que poderia explicar o sedimento ativo. Já o caso de IRA refere-se a um cão com leptospirose, pelo que a presença de um sedimento ativo e de um RPCU > 2 (3,28) também seria expectável.

A variabilidade interlaboratorial não foi equacionada no presente trabalho, uma vez que o RPCU foi feito sempre no mesmo laboratório (utilização do corante PRM). Contudo, a interpretação do RPCU também se deve basear no tipo de corante/reagente usado (Rossi et al., 2016).

Também foi abordado neste trabalho o fato do *stress* poder incrementar os valores do RPCU, no entanto não foi possível avaliar esta variável neste estudo. Para isso seria necessário obter informações acerca das frequências respiratória e cardíaca e da temperatura corporal, bem como acerca do nível de ansiedade e excitação do animal aquando da colheita, tanto no meio hospitalar como em casa (Duffy et al., 2015).

A influência da presença de hematúria nos valores do RPCU também não foi apurada neste trabalho. Contudo, deve-se considerar que numa amostra macroscopicamente hematúrica os valores do RPCU podem vir sobrestimados e que amostras de urina com mais de 250 eritrócitos/hpf podem ser erradamente diagnosticadas de proteinúria (Vientós-Plotts et al., 2017).

Por fim, no que diz respeito à avaliação das diretrizes sugeridas por Elliot et al. (2017) averiguou-se que dos animais com USG qualquer e >100 mg/dL de proteinúria, onde era suposto haver proteinúria, 8% dos valores foram discrepantes, pois tinham RPCU  $\leq 0,5$  (não proteinúricos). Já nos cães com USG < 1,012 e 30 mg/dL de proteinúria, todos apresentavam RPCU >0,5, o que está de acordo com a bibliografia. Contudo, como só houve 1 caso inserido neste grupo, considerou-se este resultado pouco significativo. Já os casos cuja USG era superior a 1,012 e a proteinúria era de 30 mg/dL, 58% eram proteinúricos o que não se coaduna com as sugestões destes autores. Por fim, nos animais com USG qualquer e 0 mg/dL ou indícios de proteinúria, 22% tinham RPCU >0,5, o que também entra em desacordo com as recomendações dos autores. Deste modo, conclui-se que este fluxograma pode ter algumas incongruências e que mais estudos são necessários para validar as sugestões de Elliot et al. (2017), ou, alternativamente, reajustar os valores sugeridos.

## 5. Conclusão

Este estudo sugere que a proteinúria de origem renal é a mais frequente nos cães que se apresentaram ao HEV-FMV, seguida da proteinúria pós-renal e pré-renal (rara). Neste trabalho, o diagnóstico diferencial mais comum da proteinúria renal são as VBD. Estes resultados podem ser extrapolados para outros países endêmicos do Sul da Europa e Mediterrâneo, contudo mais estudos são necessários.

Por outro lado, o RPCU é o meio de diagnóstico mais utilizado atualmente na quantificação da proteinúria canina e deve fazer parte do *check-up* geriátrico. A sua interpretação deve sempre ter em conta os vários fatores que podem interferir com o mesmo, tais como o método utilizado (corante/reagente), presença de sangue, sedimento urinário, tempo de armazenamento das amostras, método de colheita, entre outros.

No presente trabalho também se sugere a realização de mais estudos para se obter uma amostra mais significativa e ser possível tirar mais conclusões acerca das diretrizes recomendadas por Elliot et.al. (2017) na abordagem e decisão diagnóstica da proteinúria, uma vez que alguns resultados deste trabalho não foram coerentes com as mesmas.

Por fim, na abordagem ao cão proteinúrico é importante aferir a localização, persistência e magnitude da proteinúria e ter em consideração todos os diagnósticos diferenciais de proteinúria, fazendo a sua integração mediante a história clínica e sinais clínicos e/ou laboratoriais.

#### IV. BIBLIOGRAFIA

- Alho, A. M., Pita, J., Amaro, A., Amaro, F., Schnyder, M., Grimm, F., Custódio, A. C., Cardoso, L., Deplazes, P. & Carvalho, L. M. (2016). Seroprevalence of vector-borne pathogens and molecular detection of *Borrelia afzelii* in military dogs from Portugal. *Parasites & Vectors*, 9:225, 1-6. DOI 10.1186/s13071-016-1509-2.
- Alleman, R., & Wamsley, H. (2017). Complete urinalysis. Em J. Elliott, G. F. Grauer & J. L. Westropp, *BSAVA Manual of canine and feline nephrology and urology* (3rd ed., pp. 60-83). Gloucester, U.K.: British Small Animal Veterinary Association.
- Amorim, N. O. B., Kurtz, H. R., & Siqueira, L. O. (2013). Glicação não enzimática de proteínas na gênese da nefropatia diabética. *Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre*, 33(2), 135-141.
- Bagley, R. S., Center, S. A., Lewis, R. M., Shin, S., Dougherty, S. A., John F. Randolph, J. F., & Erb, H. (1991). The effect of experimental cystitis and iatrogenic blood contamination on the urine protein/creatinine ratio in the dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 5, 66–70. DOI: 10.1111/j.1939-1676.
- Barbosa, J. H. P., Oliveira, S. L., & Tojal e Seara, L. (2008). O papel dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) no desencadeamento das complicações vasculares do diabetes. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 52(2), 940-950.
- Breshears, M. A., & Confer, A. W. (2017). The Urinary System. Em Zachary, J. F. (2017). *Pathologic basis of veterinary disease* (6th ed., 617-681). Missouri, USA: Elsevier.
- Burton, S. (2017). Hypoproteinemia, hyperproteinemia. Em S. J. Ettinger, E. D. Feldman, & E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and the cat* (8th ed., pp. 765-770). Missouri, USA: Elsevier.
- Cardoso, L., Mendão, C., & Carvalho L. M. (2012). Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma* spp. and *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal-a national serological study. *Parasites & Vectors*, 5, 1-9.
- Cowgill, E. S., Neel, J. A., & Ruslander, D. (2004). Light-Chain Myeloma in a Dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18, 119–121.
- Crivellenti, L. Z., Silva, G. E. B., Borin-Crivellenti, S., Cianciolo, R., Adin, C. A., Dantas, M., Anjos, D. S., Tinucci-Costa, M., & Santana, A. E. (2016). Prevalence of glomerulopathies in canine mammary carcinoma. *PLOS ONE*, 11 (10), 1-10. DOI:10.1371/journal.pone.0164479.

- DiBartola, S. P., & Westropp, J. L. (2014). Glomerular Disease. Em C. G. Couto & R. W. Nelson, *Small animal internal medicine* (5th ed., pp. 653-662). Missouri, USA: Elsevier mosby.
- Di Bella, A., Maurella, C., Cauvin, A., Schmidt, J. M., Tapia, B. B. & North, S. M. (2013). Proteinuria in canine patients with lymphoma. *Journal of Small Animal Practice*, 54, 28-32. DOI: 10.1111/jsap.1200.
- Duffy, M.E., Specht, A. & Hill, R.C. (2015). Comparison between urine protein: creatinine ratios of samples obtained from dogs in home and hospital settings. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29,1029–1035. DOI: 10.1111/jvim.12836.
- Elliott, J., Grauer, G. F., & Roura, X. (2017). Proteinuria. Em J. Elliott, G. F. Grauer & J. L. Westropp, *BSAVA Manual of canine and feline nephrology and urology* (3rd ed., pp. 50-59). Gloucester, U.K.: British Small Animal Veterinary Association.
- Ganeval, D., Lacour, B., Chopin, N., & Grunfeld, J. P. (1990). Proteinuria in multiple myeloma and related diseases. *American Journal of Nephrology*, 10 (suppl. 1), 58-62.
- Geigy, C., Riond, B., Bley, C. R., Grest, P., Kircher, P., & Lutz, H. (2013). Multiple myeloma in a dog with multiple concurrent infectious diseases and persistent polyclonal gammopathy. *Veterinary Clinical Pathology* 42, 47-54 DOI:10.1111/vcp.12018.
- Graham, P. A. (2017). Urinalysis. Em S. J. Ettinger, E. D. Feldman, & E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and the cat* (8th ed., pp. 849-865). Missouri, USA: Elsevier.
- Grauer, G. F. (2011). Proteinuria: Measurement and Interpretation, *Elsevier*, 26, 121-127. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.04.002>.
- Harley, L., & Langston, C. (2012). Proteinuria in dogs and cats, *Canadian Veterinary Journal*, 53, 631–638.
- Herring, I. P., Panciera, D. L., & Werre, S. R. (2014). Longitudinal prevalence of hypertension, proteinuria, and retinopathy in dogs with spontaneous diabetes mellitus. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28, 488–495.
- IDEXX. (2017). A practical approach to using the International Renal Interest Society Chronic Kidney Disease Guidelines and the IDEXX SDMA® test in everyday practice. Obtido 10 de Abril de 2019, de [https://hillsglobalsymposium.com/library/download\\_notes/L4-Robertson-%20The%20IRIS%20CKD%20Guidelines%20and%20the%20IDEXX%20SDMA%20Test.pdf](https://hillsglobalsymposium.com/library/download_notes/L4-Robertson-%20The%20IRIS%20CKD%20Guidelines%20and%20the%20IDEXX%20SDMA%20Test.pdf).

- Iijima, S., Cho, H., Sakai, N., Shiba, K., Toyoshima, Y., Nishida, K., & Kobayashi, S. (2003). Development of a new method for measuring total urinary protein using acid violet 6B pigment. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 17, 147–154. 10.1002/jcla.10085.
- IRIS Glomerular Disease Study Group: Littman, M. P., Daminet, S., Grauer, G. F., G.E. Lees, G. E., & Van Dongen, A. M. (2013). Consensus recommendations for the diagnostic investigation of dogs with suspected glomerular disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(Suppl 1), 19-26. <https://doi.org/10.1111/jvim.12223>.
- Kim, S., Son, E., Lee, S., Lee, S., Kim, H., Kang, M., Lee, C., & Park, H. (2018). Multiple myeloma associated with IgA lambda gammopathy and multiple myeloma oncogene 1 in a Yorkshire terrier. *Veterinari Medicina*, 63, 187–192. <https://doi.org/10.17221/152/2017>.
- Lees, G. E., Brown, S. A., Elliott, J., Grauer, G. F., & Vaden, S. L. (2005). Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19, 377–385.
- Leifer, C. E. & Matus, R. E. (1986). Chronic lymphocytic leukemia in the dog: 22 cases (1974-1984). *Journal of American Veterinary Medical Association*, 189(2), 214-7.
- LeVine, D. N., Zhang, D., Harris, T., & Vaden, S. L. (2010). The use of pooled vs serial urine samples to measure urine protein:creatinine ratios. *Veterinary Clinical Pathology*, 39(1), 53-6. Doi: 10.1111/j.1939-165X.2009.00167.x.
- Littman M. P. (2011) Protein-losing nephropathy in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41, 31-62. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.09.006>.
- Littman, M. P. (2017). Genetic basis for urinary tract diseases. Em J. Elliott, G. F. Grauer & J. L. Westropp, *BSAVA Manual of canine and feline nephrology and urology* (3rd ed., pp. 172-193). Gloucester, U.K.: British Small Animal Veterinary Association.
- Marynissen, S. J. J., Willems, A. L., Paepe, D., Smets, P. M. Y., Picavet, P., Duchateau, L., & Daminet, S. (2016a). Proteinuria in apparently healthy elderly dogs: persistency and comparison between free catch and cystocentesis urine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1-9. DOI: 10.1111/jvim.14635.
- Marynissen, S. J. J., Smets, P. M. Y., Liesbeth F. E. Ghys, L. F. E., Paepe, D., Delanghe, J., Galac, S., Meyer, E., Lefebvre, H. P., & Daminet, S. (2016b). Long-term follow-up of renal function assessing serum cystatin C in dogs with diabetes mellitus or hyperadrenocorticism. *Veterinary Clinical Pathology*, 45/2, 320–329.



- Mayer, M. N., Kerr, M. E., Grier, C. K., & MacDonald, V. S. (2008). Immunoglobulin A multiple myeloma with cutaneous involvement in a dog. *Canadian Veterinary Journal*, 49, 694–702.
- Mazzi, A., Fracassi, F., Dondi, F., Gentilini, F., & Bergamini, P. F. (2008). Ratio of urinary protein to creatinine and albumin to creatinine in dogs with diabetes mellitus and hyperadrenocorticism. *Veterinary Research Communications*, 32 (Suppl 1), S299–S301. DOI 10.1007/s11259-008-9133-z.
- McCaw, D. L., Knapp, D. W., & Hewett, J. E. (1985). Effect of collection time and exercise restriction on the prediction of urine protein excretion, using urine protein/creatinine ratio in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 46, 1665–1669.
- Menn, B., Lorentz, S., & Naucke, T. J. (2010). Imported and travelling dogs as carriers of canine vector-borne pathogens in Germany. *Parasites & Vectors*, 3:34.
- Moyle, P. S., Specht, A., & Hill, R. (2018). Effect of common storage temperatures and container types on urine protein-creatinine ratios in urine samples of proteinuric dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32, 1652–1658. DOI: 10.1111/jvim.15232.
- Nabity, M. B., Boggess, M. M., Kashtan, C. E., & Lees, G. E. (2007). Day-to-day variation of the urine protein: creatinine ratio in female dogs with stable glomerular proteinuria caused by X-linked hereditary nephropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 425–430. DOI: 10.1892/0891-6640(2007)21[425:dvotup]2.0.co;2.
- Pierantozzi, M., Roura, X., Paltrinieri, S., Poggi, M., & Zatelli, A. (2013). Variation of proteinuria in dogs with leishmaniasis treated with meglumine antimoniate and allopurinol: retrospective study. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 49, 231–236. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-5840>.
- Polzin, D. J. (2017a). Chronic Kidney Disease. Em S. J. Ettinger, E. D. Feldman, & E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and the cat* (8th ed., pp. 4603-4650). Missouri, USA: Elsevier.
- Polzin, D. J. (2017b). Effects of other endocrine diseases on kidney function. Em J. Elliott, G. F. Grauer & J. L. Westropp, *BSAVA Manual of canine and feline nephrology and urology* (3rd ed., pp. 224-231). Gloucester, U.K.: British Small Animal Veterinary Association.
- Priyanka, M., Jeyaraja, K., & Thirunavakkarasu, P. S. (2018). Abnormal renovascular resistance in dogs with diabetes mellitus: correlation with glycemic status and proteinuria. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 19 (4), 304-309.
- Prudic, R. A., Saba, C. F. Lourenço, B. N., & Bugbee, A. C. (2018). Prevalence of proteinuria in a canine oncology population. *Journal of Small Animal Practice*, 1-5. DOI: 10.1111/jsap.12840.

- Reece, W. O., & Rowe, E. W. (2018). *Functional anatomy and physiology of domestic animals* (5th ed., pp 298-331). West Sussex, UK: John Wiley & Sons Inc.
- Rossi, G., Bertazzolo, W., Binnella, M., Scarpa, P., & Paltrinieri, S. (2016). Measurement of proteinuria in dogs: analytic and diagnostic differences using 2 laboratory methods. *Veterinary Clinical Pathology*, 45/3, 450–458. DOI:10.1111/vcp.12388.
- Rossi, G., Bertazzolo, W., Dondi, F., Binnella, M., Gruarin, M., Scarpa, P., & Paltrinieri, S. (2015). The effect of inter-laboratory variability on the protein:creatinine (UPC) ratio in canine urine. *The Veterinary Journal*, 1-25. DOI: <http://dx.doi.org/doi: 10.1016/j.tvjl>.
- Rossi, G., Giori, L., Campagnola, S., Zatelli, A., Zini, E., & Paltrinieri, S. (2010). Evaluation of factors that affect analytic variability of urine protein-to-creatinine ratio determination in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 73 (6), 779-788.
- Roura, X., Fondati, A., Lubas, G., Gradoni, L., Maroli, M., Oliva, G., Paltrinieri, S., Zatelli, A., & Zini, E. (2013) Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs. *The Veterinary Journal*, 198, 43–47.
- Schäfer, I. Volkmann, M., Beelitz, P., Merle, R., Müller, E. & Kohn, B. (2019). Retrospective evaluation of vector-borne infections in dogs imported from the Mediterranean region and southeastern Europe (2007–2015). *Parasites & Vectors*, 12, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3284-8>.
- Silva, P. F. N., Bracarense, A. P. F. R. L, Von Galen, L. G., Grotti, C. C. B., Balarin, M. R. S., Nakagawa, T. L. D. R., Melo, V. S., Arias, M. V. B., Reis, A. C. F. & Headley, S. A. (2008). Case report: Multiple myeloma in a dog. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 1 (1), 21-24.
- Sink, C. A., & Weinstein, N. M., (2012). *Practical urinalysis* (pp. 19-113). West Sussex, UK: John Wiley & Sons Ltd.
- Smets, P. M. Y., Lefebvre, H.P., Kooistra, H.S., Meyer, E., Croubels, S., Maddens, B.E.J., Vandenabeele, S, Saunders, J.H., & Daminet, S. (2011). Hypercortisolism affects glomerular and tubular function in dogs. *The Veterinary Journal*, 192, 532-534. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.05.027>.
- Smets, P. M. Y., Lefebvre, H. P., Meij, B. P., Croubels, S., Meyer, E., Van de Maele, I., & Daminet, S. (2012a). Long-Term follow-up of renal function in dogs after treatment for ACTH-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 565–573.
- Smets, P. M. Y., Lefebvre, H. P., Aresu, L., Croubels, S., Haers, H., Piron, K., Meyer, E., & Daminet, S. (2012b). Renal function and morphology in aged *Beagle* dogs before and

after hydrocortisone administration. *PLoS ONE*, 7(2), e31702.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031702>.

Smets, P., Meyer, E., Maddens, B., & Sylvie Daminet, S. (2010). Cushing's syndrome, glucocorticoids and the kidney. *Elsevier*, 169, 1-10.  
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.004>.

Sykes, J. E., Hartmann, K., Lunn, K. F., Moore, G. E., Stoddard, R. A., & Goldstein, R. E. (2011). 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment and prevention. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(1), 1–13. doi: 10.1111/j.1939-1676.2010.0654.x.

Syme, H. M., & Jepson, R. (2017). Clinical approach and laboratory evaluation of renal disease. Em S. J. Ettinger, E. D. Feldman, & E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and the cat* (8th ed., pp. 4603-4650). Missouri, USA: Elsevier.

Vaden, S. L. (2017). Glomerular diseases. Em S. J. Ettinger, E. D. Feldman, & E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and the cat* (8th ed., pp. 4735-4764). Missouri, USA: Elsevier.

Vaden, S. L., & Brown, C. (2017). Renal biopsy. Em J. Elliott, G. F. Grauer & J. L. Westropp, *BSAVA Manual of canine and feline nephrology and urology* (3rd ed., pp. 161-171). Gloucester, U.K.: British Small Animal Veterinary Association.

Vaden, S. L., & Elliott, J. (2016). Management of proteinuria in dogs and cats with chronic kidney disease. *Veterinary Clinics of Small Animals*, 46, 1115–1130.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.009>.

Vaden, S. L., Pressler, B. M., Lappin, M. R., & Jensen, W. A. (2004). Effects of urinary tract inflammation and sample blood contamination on urine albumin and total protein concentrations in canine urine samples. *Veterinary Clinical Pathology*, 33 (1), 14–19.

Vail, D. M. (2017). Hematopoietic tumors. Em S. J. Ettinger, E. D. Feldman, & E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and the cat* (8th ed., pp. 5000-5032). Missouri, USA: Elsevier.

Verlander, J. W. (2013). Renal physiology. Em B. G. Klein, *Cunningham's textbook of veterinary physiology* (5th ed., pp. 460–494). Missouri, USA: Elsevier Saunders.

Vientós-Plotts, A. I., Behrend, E. N., Welles, E. G., Chew, D. J., Gaillard, P. R., Busler, J. N., & Lee, H. P. (2017). Effect of blood contamination on results of dipstick evaluation and urine protein-to-urine creatinine ratio for urine samples from dogs and cats. *American Journal of Veterinary Research*, 79, 525-531.

## V. ANEXOS

### Anexo 1- Comprovativo de aceitação de um trabalho em formato de painel, no seguimento do trabalho desenvolvido nesta dissertação de mestrado.

Maastricht, 21 June 2019

Research Communication ECVIM-CA Congress 2019, Milan, Italy

Dear Dr. Paz,

It is our pleasure to inform you that your research communication has been accepted as a **poster presentation**.

Title(please note that the title might include some minor text changes):	The role of vector-borne diseases in the aetiology of overt canine proteinuria: a retrospective study in 106 dogs
Number:	ESVNU-P-3
Society:	ESVNU - European Society of Veterinary Nephrology and Urology
Presenting author:	Margarida Paz

### Anexo 2- Trabalho em formato de painel, a apresentar no Congresso do Colégio Europeu de Medicina Interna Veterinária- animais de companhia (ECVIM-CA), a realizar entre os dias 21 e 23 de setembro de 2019.

